Untersuchungen zur Steroidalkaloid- und -sapogeninführung in Pflanzen und Zellkulturen der Gattung Solanum L.

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie

der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt

von

Reinhold Carle

aus Künzelsau

1979

Untersuchungen zur Steroidalkaloid- und -sapogeninführung in Pflanzen und Zellkulturen der Gattung Solanum L.

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie

der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt

von

Reinhold Carle

aus Künzelsau

1979

Tag der mündlichen Prüfung: 17. September 1979

Dekan:	Prof. Dr. F. Oberwinkler
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. F. Oberwinkler
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. E. Reinhard

Cui nisi tibi

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die vorliegende Arbeit wurde unter Leitung von Herrn Prof. Dr. F. Oberwinkler und unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. E. Reinhard am Lehrstuhl für Pharm. Biologie der Universität Tübingen durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. F. Oberwinkler danke ich für die Überlassung des Themas, sowie für sein großes Interesse an der Arbeit und seine vielfältige Unterstützung bei deren Durchführung.

Herrn Prof. Dr. E. Reinhard danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes am Lehrstuhl für Pharm. Biologie, für die jederzeit wohlwollende Unterstützung und sein Interesse an der Arbeit.

Für zahlreiche Anregungen und weiterführende Diskussionen danke ich den Mitarbeitern des Lehrstuhls für Pharm. Biologie, sowie H. Kürschner und W. Kramer vom Lehrbereich Spezielle Botanik.

Die Studienstiftung des deutschen Volkes, Bonn-Bad Godesberg, förderte meine Arbeit durch ein großzügiges Stipendium.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536519_0051

Inhaltsverzeichnis

A		Einleitung und Problemstellung	1
B		Material und Methoden	5
	1.	Chemikalien	5
	2.	Pflanzenmaterial	6
	3.	Nährmedien	9
	4.	Anlegen von Zellkulturen	10
	4.1	Oberflächenkulturen	11
	4.2	Suspensionskulturen	11
	5.	Kulturbedingungen	12
	5.1	Anzucht der Pflanzen im Gewächshaus	12
	5.2	Callus-Kulturen	12
	5.2.1	Oberflächenkulturen	12
	5.2.2	Suspensionskulturen	13
	6.	Analytik	13
	6.1	Gewinnung der Proben	13
	6.1.1	Proben von Zellkulturen	13
	6.1.2	Proben von Pflanzenorganen	13
	6.2	Hydrolyse und Extraktion der Glykoalkaloide und Saponine	14
	6.2.1	Wiederfindungsrate	15
	6.3	Dünnschichtchromatographie	16
	6.3.1	Detektion	17
	6.4	Entwicklung einer Methode zur quantitativen Simultanbestimmung von Steroidalkaloiden und -sapogeninen	17
	6.5	GC-Trennung von Diosgenin und Tigogenin	21

6.6 Massenspektrometrie 23
6.7 GC-MS - Kopplung 23

C Ergebnisse

1. Charakterisierung der Untersuchungsobjekte aus der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] nach ihrer Morphologie 25
2. Charakterisierung der Untersuchungsobjekte aus der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] nach ihrer Steroidführung 25
2.1 Untersuchung von Blattproben 26
2.2 Diskussion der Ergebnisse 28
2.3 Untersuchung des Steroidalkaloid- und -sapogenin-Gehaltes unreifer Früchte bei Vertretern der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] 30
2.4 Diskussion der Ergebnisse 32
3. Untersuchung des Steroidalkaloid- und -sapogenin-Gehaltes von Solanum atriplicifolium GILL., Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.], im Verlaufe einer Vegetationsperiode 35
3.1 Verlauf des Steroidsapogenin-Gehaltes in den Blättern 37
3.1.1 Junge Blattentwicklungsstadien 37
3.1.2 Alte Blattentwicklungsstadien 37
3.2 Verlauf des Steroidsapogenin-Gehaltes in den Wurzeln 38
3.3 Verlauf des Steroidalkaloid- und -sapogenin--Gehaltes in den Blüten 38
3.4 Steroidalkaloid- und sapogenin-Gehalt im Verlaufe der Fruchtentwicklung 38
3.5 Untersuchung des Anteils von Diosgenin und Tigogenin bei verschiedenen Blattentwicklungsstadien von Solanum atriplicifolium GILL. 39
3.6 Untersuchung des Anteils von Diosgenin und Tigogenin in Wurzeln von Solanum atriplicifolium GILL. im Verlauf der Vegetationsperiode 40
3.7 Untersuchung des Gehalts an Diosgenin, Tigogenin und Solasodin bei Blüten von Solanum atriplicifolium GILL. im Verlauf der Vegetationsperiode 41

3.8 Untersuchung des Gehalts an Diosgenin, Tigogenin und Solasodin in unreifen Früchten von Solanum atriplicifolium GILL. im Verlauf der Vegetationsperiode 42
3.9 Diskussion der Ergebnisse 43
4. Steroid-Screening bei Solanum-Arten außerhalb der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] 46
4.1 Ergänzende quantitative Studien an Solanum aurantiacobaccatum DE WILD. 48
4.2 Diskussion der Ergebnisse 51
5. Untersuchungen an Zellkulturen 52
5.1 Screening des Pflanzenmaterials zur Anlage von Callus-Kulturen 52
5.2 Untersuchung des Steroidalkaloid- und -sapogenin-Gehaltes von Zellkulturen 54
5.3 Untersuchung der Steroide in Zellkulturen von Solanum laciniatum AIT. 55
5.4 Diskussion der Ergebnisse 61
D Zusammenfassung 64
E Literaturverzeichnis 66

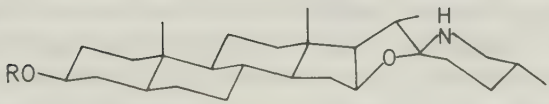
Im Text werden folgende Abkürzungen verwendet:

2,4-D	:	2,4-Dichlorphenoxyessigsäure
DC	:	Dünnschichtchromatographie
GC	:	Gaschromatographie
IAA	:	Indolylessigsäure
M^+	:	Molekülion
m/e	:	Massen/Ladungs-Verhältnis
MS	:	Massenspektroskopie
NAA	:	Naphtylessigsäure
rel. Int.	:	relative Intensität
TFAA	:	Trifluoressigsäureanhydrid
TG	:	Trockengewicht
Upm	:	Umdrehungen pro Minute

A Einleitung und Problemstellung

Durch die zunehmende Verknappung des heute meistverbreiteten Steroid-Rohstoffes, des Sapogenins Diosgenin aus den Knollen verschiedener Dioscorea-Arten, gewinnen Alkaloide der Gattung Solanum immer größere Bedeutung als Ausgangsstoffe für die Partialsynthesen von Steroidhormonen. Vor allem die Δ^5- ungesättigten Spirosolan-Derivate Solasodin und Tomatidenol (= N--analoge Verbindungen des Diosgenins; vgl. Formelübersicht Abb. 1) lassen sich mit guten Ausbeuten zu dem wichtigen Zwischenprodukt 3β-Acetoxy-pregna-5,16-dien-20-on abbauen (SCHREIBER, 1963).

I



II

I R = H: Tigogenin, R = 2 Galactose + 2 Glucose + Xylose : Tigonin
R = H, $\Delta^{5,6}$: Diosgenin, R = Glucose + 2 Rhamnose : Dioscin

II R = H: Soladulcidin,
R = H, $\Delta^{5,6}$: Solasodin; R = Galactose + Glucose + Rhamnose : Solasonin

Abb. 1: Formelübersicht

Erstes Ziel dieser Arbeit war es, innerhalb der Gattung Solanum, durch Untersuchung ihres Steroidgehaltes, Arten zu selektieren, die als Steroid-Rohstoffquelle in Frage kommen könnten. Zur Durchführung des geplanten Steroid-Screenings mußte ein umfangreiches Pflanzensortiment der Gattung Solanum L. unter identischen Bedingungen in Gewächshäusern angepflanzt und untersucht werden.

Auf die taxonomische Bedeutung der Spirosolanole und Solanidane haben SCHREIBER (1963), SANDER (1963) und BOLL (1966) hingewiesen. Bisher wurden die Alkaloide von ca. 250 Arten der Gattung Solanum erfaßt (Zusammenfassungen bei SCHREIBER, 1968; HERBERT, 1974, 1975; HARRISON, 1976). Während die Steroidalkaloide der Gattung Solanum bereits Gegenstand vieler Untersuchungen waren, liegen über Vorkommen der biogenetisch eng verwandten Steroidsapogenine (Spirostanole) innerhalb dieser Gattung nur einzelne Mitteilungen vor. TÉTÉNYI (1976) gibt einen Überblick über die bisher bekannten Sapogeninfunde und hebt ihren Wert für die taxonomische Beurteilung hervor.

Da das vorliegende Untersuchungsmaterial aus der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] bereits durch ZARYBNICKA (1977) morphologisch bearbeitet und weitgehend determiniert wurde, sollten die durch das Steroid-Screening gewonnenen Daten chemotaxonomisch ausgewertet werden, um so möglicherweise einen Beitrag zum besseren Verständnis dieses Aggregats zu leisten. Dieser taxonomische Aspekt ist von besonderem Interesse, weil für die umfangreiche Gattung Solanum - der Index kewensis nennt einschließlich der Synonyme über 3 000 Namen - eine durchgehende systematische Gliederung in infragenerische Taxa dringend erforderlich ist.

Von außerordentlichem Interesse ist in diesem Zusammenhang die Klärung der qualitativen Veränderung des Alkaloid- bzw. Sapogeningehaltes bei ein und derselben Pflanze im Prozeß ihrer Ontogenese. Außer der Arbeit von WILLUHN (1967), die sich ausschließlich mit der Fruchtentwicklung bei Solanum dulcamara L. beschäftigt, liegen hierüber keine weiteren Untersuchungen vor.

Für die Gattung Solanum [Morella (DUN.) BITT.] galt es zu klären, ob die Alkaloid- bzw. Sapogeningehalte im Verlauf einer Vegetationsperiode durch sekundäre Umwandlung oder Abbau Schwankungen unterliegen. Ohne Berücksichtigung solcher Befunde kann es bei der taxonomischen Zuordnung von Arten aufgrund ihrer Inhaltsstoffe zu Fehlschlüssen kommen.

Solche ontogenetische Untersuchungen sollten an einem Vertreter der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.], Solanum atriplicifolium GILL., vorgenommen werden. Hierzu waren der Steroidalkaloid- und -sapogeningehalt aller Organe identisch herangezogener Pflanzen in regelmäßigen Abständen während der Entwicklung auf ihre qualitative und quantitative Zusammensetzung zu untersuchen.

Bei der Bearbeitung des Solanum-Pflanzensortiments im Zuge des Alkaloid- bzw. Sapogenin-Screenings sollten die Untersuchungen auf ein Organ beschränkt werden. Da sich die Zusammensetzung der Inhaltsstoffe im Laufe der Vegetationsperiode sowohl in quantitativer als auch in qualitativer Beziehung ändern kann (WILLUHN, 1967), sollten dabei nur Blätter sich entsprechender Entwicklungsstadien herangezogen werden.

Mit Solanum laciniatum AIT. und Solanum khasianum C.B. CLARKE wurden bereits zwei Arten aus der Gattung Solanum ermittelt, die einen hohen Steroidalkaloidgehalt aufweisen (TUZSON/MAGYAR/KISS, 1958; MAITI/MOOKERJEA/MATHEW, 1965). Da der feldmäßige Anbau beider Arten als Steroidalkaloidquelle in Mitteleuropa mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden ist (BUHR, 1961; NEUBAUER, 1961) sollte im Rahmen dieser Arbeit versucht werden, Zellkulturen von Solanum laciniatum AIT. und Solanum khasianum C.B. CLARKE direkt zur Gewinnung der therapeutisch wichtigen Inhaltsstoffe einzusetzen. Vor der Anlage der Callus-Kulturen mußten bereits angebaute Solanum laciniatum-Bestände einem Alkaloid-Screening unterzogen werden, um für die Kultur geeignete, leistungsfähige Pflanzen auszulesen.

Die Fähigkeit zur Bildung von Sekundärstoffen ist eine biochemische Differenzierung, die in der intakten Pflanze erst

dann eintritt, wenn morphologische Differenzierungen der Zelle vorausgegangen sind. Bei der Anwendung von Callus-Geweben als Sekundärstoffproduzenten muß die Korrelation zwischen Sekundärstoff-Biosynthese und morphologischer Differenzierung der Zelle aufgehoben werden. Zwar erhalten die Calli verschiedener Organe ihre Omnipotenz zurück, aber dennoch ist in einigen Fällen die Fähigkeit zur Sekundärstoffproduktion blockiert oder die Zellkulturen enthalten Verbindungen des Sekundärstoffwechsels nur in wesentlich geringeren Mengen als die intakte Pflanze.

Bei den Arbeiten mit Solanum-Zellkulturen war zu überprüfen, ob die Biosyntheseleistungen der Ausgangspflanze in Kultur erhalten bleiben und in welchem Umfang gegebenenfalls Steroidalkaloide bzw. -sapogenine produziert werden. Weiter sollte untersucht werden, ob die Inhaltsstoffe, die in der Zellkultur gebildet werden, mit denen der Ausgangspflanze übereinstimmen, denn viele Beispiele zeigen, daß in Zellkulturen nicht ohne weiteres die gleichen Inhaltsstoffe zu erwarten sind, wie in der Mutterpflanze (REINHARD, 1967).

Der Nachweis des gleichzeitigen Vorkommens von Steroidalkaloiden und -sapogeninen in vier Arten der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] durch CERNY/LABLER (1958), VARSHNEY/SHARMA (1965) und VARSHNEY/DUBE (1966) gab Anlaß, den Versuch zu unternehmen, eine quantitative Bestimmungsmethode zu entwickeln, mit der beide Inhaltsstoffe simultan erfaßt werden konnten und die eine Bestimmung großer Probenzahlen erlaubte. Alle in der Literatur beschriebenen Bestimmungsmethoden taugten, wegen des erforderlichen hohen Aufwands, nicht als Screening-Methode, oder waren mit dem Nachteil behaftet, daß sie nur einen der interessierenden Inhaltsstoffe zu erfassen vermochten.

B Material und Methoden

1. Chemikalien

Außer den gesondert aufgeführten Chemikalien wurden analysenreine Substanzen der Fa. Merck AG, Darmstadt, verwendet.

Nährmedium nach MURASHIGE & SKOOG (1962), ohne Saccharose, IAA und Kinetin	Flow Laboratories, Irvine, Scotl. Großbritannien
Aethylendiamin-tetraessigsäure-dinatriumdihydrat	Fluka AG, Buchs Schweiz
Dimanin C^{R}	Baeyer, Leverkusen
Diosgenin Hecogeninacetat Solanidinhydrochlorid Tomatidin Tomatin Solasodin	Roth KG, Karlsruhe Ferak, Berlin und ICN K&K Laboratories Inc. Plainview, N.Y., U.S.A.
Tigogenin	Sigma, St. Louis, Miss., U.S.A.
ß-Sitosterin Campesterin Stigmasterin	Serva, Feinbiochemica, Heidelberg
Gas-Chrom Q 100-120 mesh Silicon QF-1 Silicon SE-30	 F&M Scientific Corp. Avondale, Penn., U.S.A.

Prof. R. Tschesche, Bonn, danke ich für die Überlassung einer Probe von Tigogenin.

2. Pflanzenmaterial

Im Rahmen des Steroid-Screenings und zur chemotaxonomischen Auswertung wurden die unten aufgeführten Pflanzen untersucht. Die Anzucht des gesamten Untersuchungsmaterials erfolgte in Gewächshäusern des Botanischen Gartens und des Lehrstuhls für Pharm. Biologie der Universität Tübingen.

Das erforderliche Saatgut gelangte durch Samenaustausch von verschiedenen botanischen Gärten nach Tübingen.

Die folgende Aufstellung umfaßt alle Arten bzw. Herkünfte aus der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.]. Da die meisten der hier aufgeführten Vertreter dieser Sektion bereits durch ZARYBNICKA (1977) morphologisch bearbeitet wurden, darf ihre Determinierung als weitgehend gesichert angesehen werden.

Die auf den Herkunftsort folgende Jahreszahl gibt das Jahr an, in welchem das betreffende Saatgut nach Tübingen gelangte.

Solanum aggregatum JACQ.	Moskau 1977
Solanum alatum MOENCH.	Leipzig 1975
	Rotterdam 1976
Solanum americanum MILL.	Gatersleben 1973
Solanum atriplicifolium GILL.	Vacratot 1976
Solanum boerhaviaefolium SENDT.	Nijmegen 1975
Solanum decipiens OPIZ	Leningrad 1977
Solanum decurrens WALL.	Nijmegen 1975
Solanum fontanesianum SCHRANK	Nijmegen 1977
Solanum gracile OTTO	Cluj 1975
	Dijon 1976
	Nijmegen 1974
	Nijmegen 1975
	Nijmegen 1976
Solanum guineense LAM.	Vacratot 1976
	Liverpool 1977
Solanum humistratum RSHAW.	Moskau 1978

Für die Anzucht und Pflege des Pflanzenmaterials danke ich Herrn Gartenobermeister J. Frantz und Herrn Gartenmeister H.P. Trefzer

Solanum intrusum SORIA	Glasgow 1975
	Leiden 1975
Solanum judaicum BESS.	Izmir 1977
Solanum luteum MILL.	Besançon 1974
	Göttingen 1976
	Stockholm 1974
	Stockholm 1975
	Stockholm 1976
Solanum luteum ssp. alatum MILL.	Besançon 1976
Solanum melanocerasum ALL.	Gatersleben 1977
Solanum miniatum BERNH.	Karlsruhe 1976
	Izmir 1977
Solanum nigrum L.	Besançon 1976
Solanum nitidibaccatum BITT.	Nijmegen 1974
	Göttingen 1973
	Kopenhagen 1974
Solanum nodiflorum JACQ.	Cluj 1974
	Cluj 1976
	Kopenhagen 1974
	Kopenhagen 1976
Solanum ochroleucum BAST.	Modena 1976
Solanum oleraceum DUN.	Dijon 1975
Solanum olgae POJARK.	Gatersleben 1977
Solanum ottonis HYL.	Kopenhagen 1975
Solanum quitoense LAM.	Cluj 1975
	Nijmegen 1975
Solanum retroflexum DUN.	Nijmegen 1977
Solanum sublobatum WILLD.	Coimbra 1978
	Lissabon 1976
Solanum triflorum NUTT.	Marnier 1976
Solanum tripartitum DUN.	Kopenhagen 1974
	Nijmegen 1975
Solanum villosum MILL.	Budapest 1976
	Nijmegen 1976
	Modena 1976
Solanum villosum var. alatum MOENCH.	Budapest 1976
	Nijmegen 1976
Solanum zelenetzkii POJARK.	Leningrad 1977

Die folgenden Arten bzw. Herkünfte werden zu anderen Sektionen gestellt oder konnten nicht eindeutig zugeordnet werden. Ihre Determinierung war nicht Gegenstand dieser Arbeit und ist daher teilweise unsicher. Dennoch wurden diese Pflanzen dem Steroid-Screening unterzogen - eine chemotaxonomische Verwertung der Untersuchungsergebnisse aus dieser Gruppe unterblieb jedoch. Die Untersuchungen innerhalb dieser Gruppe dienten allein der Suche nach steroidreichen Pflanzen.

Solanum abutiloides BITT. & LILLO	Gatersleben 1973
Solanum aethiopicum L.	Marnier 1975
Solanum argentinum BITT. & LILLO	Coimbra 1978
Solanum aurantiacobaccatum DE WILD.	Lüttich 1975
Solanum bahamense L.	Gatersleben 1977
Solanum balbisii DUN.	Ventimiglia 1976
Solanum cervantesii LAG.	Dahlem 1976
Solanum ciliatum LAM.	Dijon 1976
Solanum cinereum R.BR.	Canberra 1976
Solanum cinnamomeum SENDT.	Vacratot 1976
Solanum citrullifolium A.BR.	Göttingen 1975
Solanum coccineum JACQ.	Kirstenbosh/Newlands 1976
Solanum cornutum LAM.	Kopenhagen 1975
Solanum dombeyi DUN.	Ventimiglia 1975
Solanum ferox BURM.	Herkft. unbek.
Solanum gibberulosum JUZ. & BUK.	Nijmegen 1975
Solanum giganteum JACQ.	Brüssel 1976
Solanum gilo RADDI	Karlsruhe 1976
Solanum hibiscifolium RUSBY	Marnier 1976
Solanum integrifolium POIR.	Kopenhagen 1975
Solanum khasianum C.B. CLARKE	Nagpur 1976
Solanum laciniatum AIT.	Coimbra 1976
	Mainz 1975
	Bet Dagan 1976
Solanum lidii SUNDING	Oslo 1976
Solanum linearifolium HERASIM.	Canberra 1975
Solanum lyratum THUNB.	Marnier 1976
Solanum marginatum L.	Marnier 1976
Solanum maroniense POIT.	Nijmegen 1975

Solanum mauritianum SCOP.	Genf 1975
Solanum megacarpum KOIDZ.	Göttingen 1976
Solanum muricatum AIT.	Herkft. unbek.
Solanum opacum A.BR. & BOUCHE	Nijmegen 1977
Solanum panduraeforme DRÊGE	Marnier 1977
Solanum paranense DUSÉN	Bordeaux 1976
Solanum persicum WILLD.	Vacratot 1976
Solanum platense DIECKM.	Genf 1975
Solanum pseudocapsicum L.	Brüssel 1976
Solanum rantonnetii CARR.	Lissabon 1976
Solanum simile F. MUELL.	Perth 1978
Solanum stuckertii BITT.	Gatersleben 1977
Solanum tarijense HAWKES	Vacratot 1976
Solanum tomentosum L.	Marnier 1976
Solanum vespertilio AIT.	Tenerife 1976
Solanum tucumanense GRISEB.	Gatersleben 1977
Solanum xanthocarpum SCHRAD. & WENDL.	Nepal/Dr. Dobat

3. Nährmedien

Als Grundmedium G_o wurde das Nährmedium nach MURASHIGE und SKOOG (1962) verwendet, das mit verschiedenen Mengen Kinetin und IAA, bzw. NAA oder 2,4-D supplementiert wurde.

(Angaben in mg/l)

NH_4NO_3	1650
KNO_3	1900
$CaCl_2 \times 2\ H_2O$	440
$MgSO_4 \times 7\ H_2O$	370
KH_2PO_4	170
Fe-EDTA	42,8
H_3BO_3	6,2
$MnSO_4 \times H_2O$	18,4
$ZnSO_4$	6,0
KJ	0,83
$Na_2MoO_4 \times 2\ H_2O$	0,25
$CuSO_4 \times 6\ H_2O$	0,025

$CoCl_2 \times 6\ H_2O$	0,025	
Glycin	2,0	
meso-Inosit	100	
Nicotinsäure	0,5	
Pyridoxin-HCl	0,5	
Thiamin-HCl	0,1	
Saccharose	30	g/l

Bei Oberflächenkulturen zusätzlich:

Agar	10	g/l

Der pH-Wert wurde vor dem Autoklavieren mit KOH auf 5,7 eingestellt.

Tab. 1: Supplementierung des Grundmediums mit Kinetin und Auxin

Medium	G_{69}	G_{70}	G_{71}	G_{72}	G_{73}	G_{74}	G_{75}	G_{76}	G_{77}
Kinetin mg/l	0,5	0,5	0,5	1,0	1,0	1,0	2,0	2,0	2,0
Auxin mg/l	0,5	1,0	2,5	0,5	1,0	2,5	0,5	1,0	2,5

Entsprechend dem hinzugesetzten Auxin wurde das Medium z.B. als G_{69}-IAA, G_{69}-NAA oder G_{69}-2,4-D bezeichnet.

4. Anlegen von Callus-Kulturen

Um für die Kultur geeignete, leistungsfähige Pflanzen auszulesen, wurden die Pflanzenbestände einem Steroid-Screening unterzogen (Beschreibung des Verfahrens unter B 6). Die größtmögliche Wahrscheinlichkeit zur Anzucht gut produzierender Zellkulturen sollte durch Callus-Bildung solcher Pflanzen erzielt werden.

Von folgenden Pflanzen wurden Stengel-Callus-Kulturen angelegt:

Solanum khasianum C.B. CLARKE Nagpur 1976/Indien
Solasodingehalt (Frucht): 2,18%

	Diosgeningehalt (Frucht): 0,1 %
Solanum laciniatum AIT.	Coimbra 1976/ 22a
	Solasodingehalt: 1,08 %
	Diosgeningehalt: 0,08 %

4.1 Oberflächenkulturen

Die Callus-Kulturen auf Agar wurden nach den bei KOBLITZ (1972) zusammengestellten, allgemeinen Methoden der Kulturtechnik angelegt.

Von den entsprechenden Topfpflanzen wurden Sproßabschnitte mit etwa 5 mm Durchmesser abgeschnitten und deren Blätter entfernt. Die Stengelstücke wurden 2 Minuten in Äthanol 96 % eingelegt und anschließend 7-10 Minuten lang in wässriger Natriumhypochlorit-Lösung 10 % (Dimanin C) oberflächensterilisiert bis zur beginnenden Weißfärbung des Rindenbereiches. Danach wurde dreimal mit sterilem Wasser abgespült. Unter aseptischen Bedingungen wurden die Sproßabschnitte in 2-5 mm dicke Scheibchen geschnitten, welche auf kleinen Petrischalen ausgelegt wurden. Deren Füllmenge betrug je 15 ml Nähragar. Zum Schutze vor Verdunstungsverlusten im Laufe der Kulturpassage wurden die verschlossenen Petrischalen seitlich mit Paraplast umwickelt.

Nach 5-14 Tagen bildete sich an den Schnittflächen der Stengelstücke farbloses bis dunkelgrünes Wundgewebe.

Die entstandenen Calli wurden nach 21 Tagen Kulturdauer in 300 ml-Erlenmeyerkolben mit je 100 ml Nähragar umgesetzt. Bei der Weiterkultivierung wurde die Passagendauer von drei Wochen beibehalten.

4.2 Suspensionskulturen

Nach zwölf Kulturpassagen von jeweils 21 Tagen wurden 1 g Callus in 25 ml Nährlösung pro Kolben (100 ml Erlenmeyer) eingewogen

und auf Rundschüttelmaschinen weiterkultiviert.

Die Umstellung von Oberflächen- auf Suspensionskulturen gelang am besten bei lockerem, leicht zerfallendem Callus. Schwierigkeiten bereiteten Calli, die auf Agar in kompakten Brocken mit Durchmessern von über 1 cm gewachsen waren. Beim Überimpfen wurden während der ersten Passagen immer nur die feinsten Zellaggregate als Inoculum verwendet.

Nach 3-4 Passagen von jeweils 18 Tagen konnte ausreichend feines Gewebe (Durchmesser der Zellaggregate 1-2 mm) bei gutem Wachstum erzielt werden.

5. Kulturbedingungen

5.1 Anzucht der Pflanzen im Gewächshaus

Die Anzucht der Pflanzen erfolgte in Gewächshäusern bei 70 % rel. Luftfeuchtigkeit. Neben dem Tageslicht wurde mittels Osram-L-Fluora 65 W-Leuchtstoffröhren von 7-19 Uhr Zusatzlicht (12 Stunden-Tag) gegeben. Am Tag wurde eine Temperatur von 17-19 °C, bei Nacht von 15-16 °C eingehalten.

5.2 Callus-Kulturen

5.2.1 Oberflächenkulturen

In Kulturschränken wurden Petrischalen bzw. Erlenmeyerkolben bei einer Temperatur von 25 $\pm$ 2 °C einer Dauerbeleuchtung von 2000 Lux ausgesetzt. Verwendet wurden Osram-L-Fluora 40 W/77-Leuchtstoffröhren mit hohem Anteil an blauer und roter Strahlung. ALFERMANN (1973) gibt hierzu genaue Daten an.

Die Inoculumgröße betrug 0,8-1,2 g pro 100 ml Nähragar bei einem Umimpfintervall von 3 Wochen.

5.2.2 Suspensionskulturen

Die Kultivierung der Suspensionskulturen erfolgte in Inkubationsmaschinen (Typ RC 1 TK; Fa. Infors AG, Basel, Schweiz) mit 100 Upm (Hub Ø 5 cm) bei einer Beleuchtung von 2400 Lux Dauerlicht (Osram-L-Fluora 40 W/77) und einer Temperatur von 25 $\pm$ 1 °C.

Zur Erhaltung der Kulturen wurden 300 ml-Erlenmeyerkolben mit Schikane und einer Füllung von 50 ml Nährmedium mit 2 g Frischgewicht inkubiert. Die Dauer einer Kulturpassage betrug ebenfalls 18 Tage.

6. Analytik

6.1 Gewinnung der Proben

6.1.1 Proben von Zellkulturen

Die Proben wurden über ein Seitz-Filter in Gewebefraktion und Kulturfiltrat getrennt. Das Gewebe wurde eingefroren und anschließend in der Gefriertrocknung (Typ Delta 1, Fa. Christ, Osterode/Harz) lyophilisiert. Das lyophilisierte Gewebe wurde gewogen und im Exsikator aufbewahrt. Das Trockengewicht wurde auf einen Liter Nährlösung bezogen (g/l).

6.1.2 Proben von Pflanzenorganen

Die von der Untersuchungspflanze entnommenen Organe wurden mit der Schere grob zerkleinert, eingefroren, lyophilisiert und gewogen. Das lyophilisierte Material wurde mit einer Mikroschlagmühle (Typ Culatti, Janke & Kunkel KG, Staufen) pulverisiert und im Exsikator aufbewahrt.

Für die ontogenetischen Untersuchungen wurden die Blätter in junge Blattentwicklungsstadien (Blattlänge $\leq$ 50 mm) und alte Blattentwicklungsstadien (Blattlänge = 80-160 mm) eingeteilt.

Zur Untersuchung der Früchte wurden grüne Beeren mit einem Durchmesser von 7-9 mm herangezogen. Beim Waschen der entnommenen Wurzelstöcke wurde auf möglichst geringe Verluste von feinem Wurzelmaterial geachtet. Alle Proben wurden in der Regel wöchentlich und zur gleichen Tageszeit entnommen.

6.2 Hydrolyse und Extraktion der Glykoalkaloide und Saponine

Sowohl die Steroidalkaloide als auch die -saponine liegen genuin als Glykoside vor (vgl. Abb. 1). Zur Gewinnung der Aglykone können prinzipiell zwei Wege beschritten werden:

Einmal lassen sich die Glykoside mit hydrophilen organischen Lösungsmitteln, wie Methanol, extrahieren und nach mühsamer Reinigung können dann aus den Glykosiden die Aglykone durch saure Hydrolyse freigesetzt werden.

Zum anderen lassen sich die Glykoside schon im pflanzlichen Gewebe sauer hydrolisieren und aus dem neutralisierten Hydrolyserückstand können mit lipophilen Lösungsmitteln die Aglykone extrahiert werden.

FAZLI und HARDMAN (1968) haben den bequemeren zweiten Weg zur Isolierung von Steroidsapogeninen vorgeschlagen. Für die Isolierung dieser Substanzklasse findet ihr Verfahren heute allgemein Anwendung, nicht jedoch bei der Isolierung von Steroidalkaloiden.

Hierfür wird allgemein der traditionelle, recht umständliche erste Weg beschritten, der durch KUHN und LÖW (1955) beschrieben wurde. Als hydrophiles Lösungsmittel findet meist Essigsäure 5 % (und weitere verdünnte organ. und anorgan. Säuren) Anwendung.

In der vorliegenden Arbeit wurde das vorteilhaftere Verfahren von FAZLI und HARDMAN (1968) in modifizierter Form sowohl auf die Saponine als auch auf die Glykoalkaloide angewandt.

SAUVAIRE und BACCOU (1978) und SEGAL/BREUER/MILO-GOLDZWEIG (1977) konnten zeigen, daß sowohl die Normalität der für die Hydrolyse verwendeten Säure, als auch die Hydrolysedauer und -temperatur großen Einfluß auf die Bildung von Artefakten haben. So entstehen durch Dehydratisierung von Diosgenin und Solasodin die entsprechenden Diene Spirosta-3,5-dien bzw. Δ^5 - - Solasodien.

Nach Optimierung der Bedingungen kam unter Berücksichtigung des o.a. Sachverhaltes folgendes Verfahren zur Anwendung:

100 mg gepulverte Probe (500 mg bei Zellkulturen) wurden mit 40 ml 2 N HCl/CH_3OH zwei Stunden bei 75 °C am Rückfluß gekocht. Dann wurden die abgekühlten Extrakte mit 6 ml NH_3 25 % abgestumpft und zur Trockene eingeengt. Der Rückstand wurde mit 10 ml eiskaltem Wasser aufgenommen und filtriert. Der auf dem Seitz-Filter gesammelte Rückstand wurde mit 25 ml NH_3 10 % alkalisiert, mit 25 ml kaltem Wasser neutral gewaschen und über Nacht bei 60 °C im Trockenschrank getrocknet.

Das trockene Seitz-Filter wurde mit 50 ml $CHCl_3$ bei 70 °C am Rückfluß gekocht. Der Extrakt wurde unter Nachwaschen filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Der Rückstand wurde in 10 ml $CHCl_3$ aufgenommen. Ein Aliquot hiervon wurde der gaschromatographischen, ein weiteres der dünnschichtchromatographischen Untersuchung zugeführt (Vgl. B 6.4 bzw. B 6.3).

6.2.1 Wiederfindungsraten

Für Diosgenin wurde eine Wiederfindungsrate von 87,2 ± 3,1 %, für Solasodin von 71,3 ± 3,5 % ermittelt (n = 6).

Aus der stark verkürzten Extraktionsdauer - FAZLI/HARDMAN (1968) extrahieren 24 Stunden ! - resultieren wohl die etwas niedrigeren Wiederfindungsraten. Die gefundenen Werte erscheinen in

Anbetracht ihrer guten Reproduzierbarkeit und im Hinblick auf einen rationellen Analysenablauf für eine Screening-Methode ausgezeichnet.

6.3 Dünnschichtchromatographie (DC)

Zur orientierenden Untersuchung wurden die Probeextrakte auf 20 x 20 cm Kieselgel-60 Fertigplatten ohne Fluoreszenzindikator (Schichtdicke 0,25 mm; Fa. Merck) zusammen mit den Referenzsubstanzen chromatographiert.

Zur Trennung der Steroidalkaloide und -sapogenine wurden folgende Fließmittelgemische verwendet:

I. Essigsäureäthylester : Cyclohexan = 70 : 30 (v/v) nach SANDER/WILLUHN (1961)

II. Chloroform : Methanol = 90 : 10 (v/v) nach RÖNSCH/SCHREIBER (1967)

III. Methylenchlorid : Methanol = 90 : 10 (v/v) nach HUNTER et al. (1976).

Für die Auftrennung der Glykoalkaloide wurde angewandt:

Essigsäureäthylester : Pyridin : Wasser = 30 : 10 : 30 (v/v/v) Epiphase; nach BOLL (19

Als Fließmittel für Steroidsaponine fand Verwendung:

Chloroform : Methanol : Wasser = 65 : 35 : 10 (v/v/v) untere Phase; nach KAWASAKI/MIYAHARA (1963

Zur Gewinnung der für die massenspektrometrische Identifizierung erforderlichen Steroidproben wurde der Extrakt auf präparativen DC-Platten (Kieselgel SIL G-200; Fa. Macherey-Nagel & Co. oder Kieselgel G mit Konzentrierungszone; Fa. Merck) chromatographiert. Die Substanzflecke wurden ausgekratzt, die entsprechende

Substanz aus dem Kieselgel eluiert und das konzentrierte Eluat für die Anfertigung der Massenspektren verwendet (vgl. 6.6).

6.3.1 Detektion

Als Sprühreagentien auf Steroidalkaloide und -saponine und deren Aglykone wurden angewandt:

I.	Anisaldehyd/Phosphorsäure	WALDI (1962)
II.	Anisaldehyd/Schwefelsäure/ Phosphormolybdänsäure	ROZUMEK et al. (1969)
III.	Cer(IV)-sulfat/Schwefelsäure	SCHREIBER/AURICH/ OSKE (1963)
IV.	Schwefelsäure	HUNTER et al. (1976)
V.	Vanillin/Phosphorsäure	WILLUHN (1966)

Nach dem Besprühen wurden die DC-Platten im Trockenschrank fünf Minuten bei 110 °C erhitzt und im sichtbaren Licht ausgewertet.

6.4 Entwicklung einer Methode zur quantitativen Simultanbestimmung von Steroidalkaloiden und -sapogeninen

Um im Rahmen der vorliegenden Arbeit ein umfangreiches Pflanzensortiment untersuchen zu können, mußte für dieses Vorhaben eine Methode entwickelt werden, die die Untersuchung einer großen Probenzahl unter minimalem Zeitaufwand ermöglichte und die beiden Substanzklassen gerecht wurde.

Besonders für die Bestimmung der Steroidalkaloide werden aber in der Literatur, bezüglich der Probenvorbereitung, recht aufwendige Methoden beschrieben. CLARKE (1958) entwickelte eine colorimetrische Bestimmung von Δ^5 - ungesättigten Steroidalkaloiden. GRACZA/SZÁSZ (1962), BIRNER (1969) und LANCASTER/MANN (1975) geben ebenfalls colorimetrische, weniger spezifische, Verfahren an. HARDMAN/WILLIAMS (1976) und TELEK (1977) lassen Solasodin wasserfrei titrieren. Die Indizierung erfolgt in beiden Fällen po-

tentiometrisch.

Mit den von COOKE (1970) und CRIPPS/BLUNDEN (1978) beschriebenen gaschromatographischen Bestimmungen für Diosgenin bzw. Tigogenin standen für die Bestimmung der Sapogenine praktikable Screening-Methoden zur Verfügung.

VANDEN HEUVEL et al. (1961) geben für die Trennung von Steroidalkaloiden ein gaschromatographisches Verfahren an, das bisher noch nicht für quantitative Bestimmungen herangezogen wurde.

Da die hier zu untersuchenden Extrakte sowohl Alkaloide als auch Sapogenine enthielten, sollte eine simultane gaschromatographische Bestimmung beider Komponenten mit einer geeigneten Trennflüssigkeit möglich sein.

Eine solche Methode, mit der beide Komponenten gleichzeitig quantitativ erfaßt werden können, wurde in der vorliegenden Arbeit ausgearbeitet und wird im folgenden beschrieben (CARLE/REINHARD, 1979).

Ein Aliquot des ungereinigten Untersuchungsextraktes (vgl. B 6.2) wurde in 2 ml-Injektionsflaschen (Hewlett Packard, Frankfurt) pipettiert. Die Probenbehälter werden mittels eines Metallverschlusses, der ein Gummiseptum besitzt, mit Hilfe einer Zange verschlossen. Eine Derivatisierung der Untersuchungssubstanzen erwies sich als unnötig.

Die Probenaufgabe erfolgte durch einen automatischen Probengeber (Hewlett Packard 7671 A) mittels einer 10 µl-Spritze (Hamilton 701 N). Bei einem Probevolumen von 2 µl und automatischer Dosierung wurde eine relative Standardabweichung der Analysenwerte von $\pm$ 1,0 % ermittelt (n = 9).

Die Gaschromatogramme wurden mit einem Hewlett Packard-Gerät vom Typ 5700 A und einem Schreiber vom Typ 7128 A aufgenommen.

Gaschromatographische Bedingungen:

Säule:	Glas; 1/8 ''x 6 ft
Stationäre Phase:	0,75 % oder 3 % SE-30
Trägermaterial:	Gaschrom Q, 100-120 mesh
Detektor:	Flammenionisationsdetektor (FID)
Injektortemperatur:	300 °C
Detektortemperatur:	300 °C
Säulentemperatur:	250 °C isotherm
Trägergasstrom (He):	30 ml/min
Luft:	240 ml/min
Wasserstoff:	30 ml/min

Es wurde mit selbst imprägnierten Säulenfüllmaterialien gearbeitet. Die Belegung erfolgte im Prinzip nach dem bei KAISER (1968) als "Methode 1" beschriebenen Verfahren (mit vorgelegter Menge an flüssiger Phase). Abrieb oder aggregierte Teilchen wurden nach dem Imprägnieren durch Sieben entfernt.

Zur Konditionierung der Säulen wurde erst 1-2 Stunden mit strömendem Trägergas bei 200 °C ausgeheizt, dann 2 Stunden ohne Trägergas bei 270 °C, anschließend wurde die Säule rasch abgekühlt und mit Trägergas bei 250 °C 24 Stunden konditioniert.

Fehler durch Zersetzung von Analysensubstanz an Metallteilen wurden durch Verwendung einer Glassäule vermieden und indem diese bis unmittelbar zum Teflonseptum des Injektionsblocks verlängert wurde.

In Abb. 2 ist das Gaschromatogramm eines Analysenbeispiels dargestellt.

Zur quantitativen Auswertung der Probenanalysen stand ein Integrator (Hewlett Packard 3370 B) zur Verfügung oder die Auswertung erfolgte nach der Peakhöhenmethode (KAISER, 1968).

Wie die Eichkurve (Abb. 3) zeigt, ergibt sich für den angewandten Konzentrationsbereich für alle drei Komponenten der Probe gute Linearität, so daß die Auswertung nach der Peakhöhenmethode zulässig ist. Die Eichung wurde grundsätzlich zu Beginn und am

Ende eines jeden Analysenganges durchgeführt.

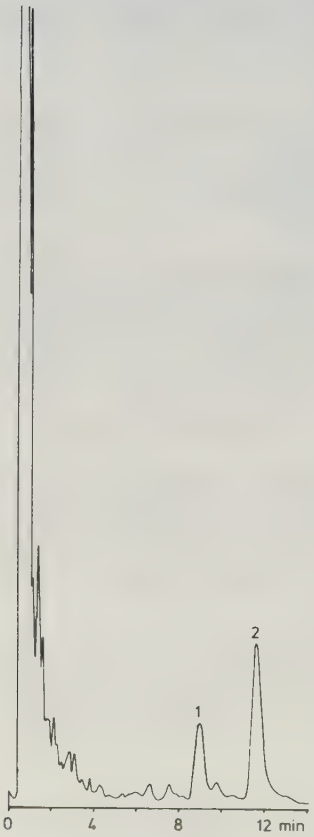


Abb. 2: GC-Trennung eines Fruchtextraktes von Solanum alatum MOENCH.
1 - Diosgenin/Tigogenin
2 - Solasodin

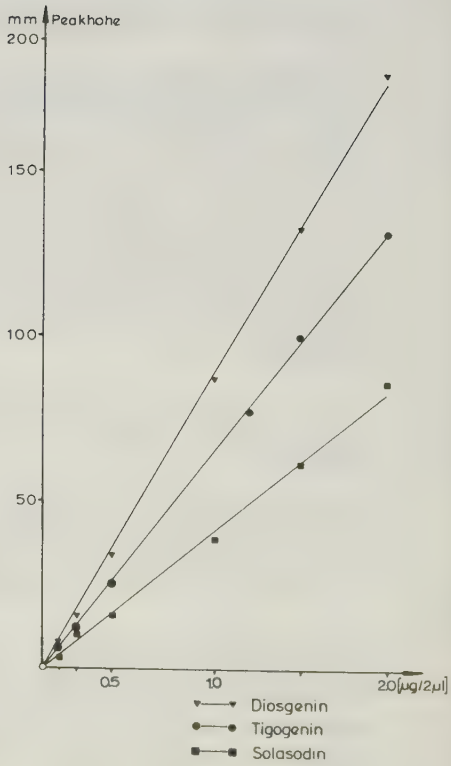


Abb. 3: Eichkurve für die Auswertung nach der Peakhöhenmethode

6.5 GC-Trennung von Diosgenin und Tigogenin

Mit der o.a. Methode lassen sich, wie aus Abb. 2 ersichtlich, Steroidalkaloid- und -sapogeninanteil in einer Probe bestimmen, jedoch ist eine Unterscheidung des kritischen Substanzpaares Diosgenin (Δ^5) und Tigogenin (5α) nicht möglich. Diese Unterscheidung ist aber von chemotaxonomischem, besonders aber von hohem pharmazeutischem Interesse, denn allein das ungesättigte Diosgenin ist von diesen beiden Substanzen als Ausgangsstoff für die Steroidpartialsynthese zu verwerten.

Deshalb mußten alle Extrakte, die Sapogenine enthielten, in einem weiteren Schritt daraufhin untersucht werden, ob sie ausschließlich Diosgenin oder Tigogenin, oder ob sie ein Gemisch beider Stoffe enthielten. Im letzteren Fall mußte das Mengenverhältnis der beiden Stoffe zueinander bestimmt werden.

Dieser Analysenschritt erfolgte in modifizierter Form nach einer Methode von KNIGHT (1977).

Hierzu wurde ein Aliquot des Probenextraktes in 2 ml-Injektionsflaschen eingefüllt. Das Lösungsmittel wurde im Trockenschrank entfernt. Die im Gefäß zurückbleibenden Sapogenine wurden in einem Gemisch aus 0,5 ml $CHCl_3$ und 0,5 ml Trifluoressigsäureanhydrid (TFAA) gelöst. Nach 15 Minuten Reaktionszeit bei 40 °C wurde das Reagenz mit dem Lösungsmittel durch Erwärmen im Trokkenschrank entfernt. Die entstandenen TFAA-Ester der Sapogenine wurden in 2 ml $CHCl_3$ gelöst und sofort für die gaschromatographische Untersuchung verwendet.

Gaschromatographische Bedingungen:

Säule:	Glas; 1/8 ''x 10 ft
Stationäre Phase:	3 % QF-1
Säulentemperatur:	220 °C isotherm

Alle übrigen Parameter wie unter B 6.4.

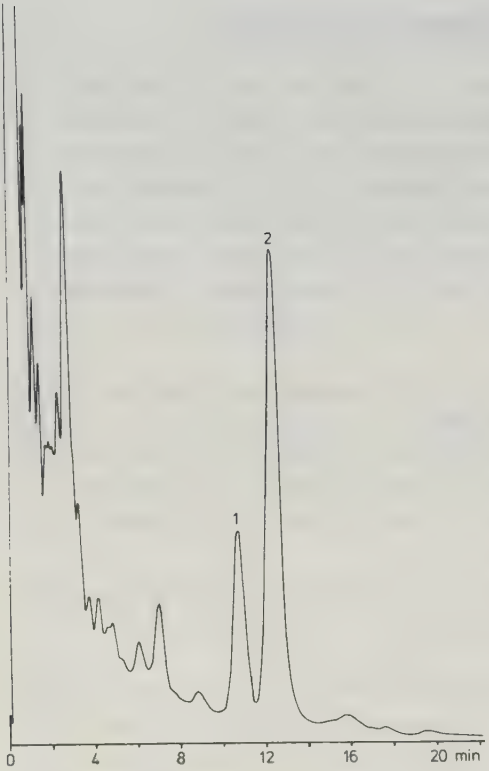


Abb. 4:
GC-Trennung von Diosgenin (1) und Tigogenin (2) nach Derivatisierung mit TFAA am Beispiel eines Blütenextraktes von Solanum atriplicifolium GILL.

In Abb. 4 ist die GC-Trennung eines Probenextraktes wiedergegeben, der das kritische Substanzpaar Diosgenin/Tigogenin enthält.

Mit dieser Trennung können neben gesättigten und ungesättigten Sapogeninen auch die entsprechenden C_{25}-epimeren Verbindungen unterschieden werden, so z.B. Diosgenin (Δ^5,25 R) und Yamogenin (Δ^5, 25 S) oder Tigogenin (5α, 25 R) und Neotigogenin (5α, 25 S). Die Klärung, welches der Epimeren jeweils vorliegt, ist von chemotaxonomischem Interesse.

6.6 Massenspektrometrie (MS)

Wenngleich sich bei den orientierenden dünnschichtchromatographischen Untersuchungen Übereinstimmungen von R_f-Werten mit denen von Referenzsubstanzen ergaben, und die Retentionszeiten bei der GC-Trennung mit denen der Vergleichssubstanzen übereinstimmten, wurden dennoch massenspektrometrische Untersuchungen zur Absicherung der Befunde durchgeführt.

Die Untersuchungssubstanzen wurden hierzu, wie unter B 6.3 beschrieben, gewonnen.

Die Spektren wurden mit einem Varian Mat CH 7 - Massenspektrometer bei folgenden Geräteparametern aufgenommen:

Ionisierungsenergie:	70 eV
Ionenquelle:	250 °C

Durch Vergleich der erhaltenen Massenspektren mit denen von Vergleichssubstanzen konnten die Substanzen eindeutig identifiziert werden.

6.7 GC-MS - Kopplung

Durch die Kopplung des Massenspektrometers mit einem Gaschromatographen (Varian Aerograph 1400) konnten von einzelnen Komponenten aus einem Extrakt, nach gaschromatographischer Trennung, Massenspektren aufgenommen werden. Beide Geräte werden bei dieser Technik durch ein kontinuierliches Einlaßsystem gekoppelt.

Geräteparameter und gaschromatographische Bedingungen:

Ionisierungsenergie:	70 eV
Ionenquelle:	250 °C
Detektion:	Totalionenstrom
Kopplungsteil:	250 °C
Säule:	Glas; 1/8 ''x 6 ft

Stationäre Phase:	3 % SE-30
Trägermaterial:	Gas Chrom Q, 100-120 mesh
Säulentemperatur:	220 °- 270 °C; 4 °C/min Temperaturprog
Injektionstemperatur:	270 °C
Trägergasstrom (He):	30 ml/min

C Ergebnisse

1. Charakterisierung der Untersuchungsobjekte aus der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] nach ihrer Morphologie

Die Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] stellt eine der meist verbreiteten und variablen Arten-Gruppe der Gattung Solanum dar. Die starke Variabilität der Merkmale innerhalb einer Art und die große Ähnlichkeit der nahe verwandten Arten machen eine Determinierung der Vertreter dieser Gattung außerordentlich schwer.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Untersuchungen auf den chemischen Aspekt beschränkt, da, bezüglich der Charakterisierung und Determinierung der Untersuchungsobjekte, auf die von ZARYBNICKA (1977) durchgeführten, morphologischen Untersuchungen an Vertretern dieser Sektion zurückgegriffen werden konnte.

2. Charakterisierung der Untersuchungsobjekte aus der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] nach ihrer Steroidführung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 32 Arten bzw. 55 Herkünfte der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] auf ihren Gehalt an Steroidalkaloiden und -sapogeninen im generativen und vegetativen Bereich untersucht. Um einen evtl. vorhandenen Unterschied in der Steroidführung (qualitativ oder quantitativ) feststellen zu können, wurden Blätter und unreife Früchte gleichen Entwicklungsstadiums zur Untersuchung herangezogen. Blüten, reife Früchte und Wurzelstöcke wurden nicht bei allen Vertretern untersucht.

2.1 Untersuchung von Blattproben

Die Ergebnisse der Blatt-Analysen sind in Tab. 2 dargestellt:

Tab. 2: Steroidsapogeningehalt in den Blättern von Pflanzen der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.]

Art	Durchschnittsgehalt in % v. TG		
	Sapogenin		Alkaloid
	Diosgenin	Tigogenin	Solasodin
S. aggregatum JACQ.	---	0,40	---
S. alatum MOENCH.●	---	1,95	---
S. americanum MILL.	---	0,48	---
S. atriplicifolium GILL.	0,16	0,88	---
S. boerhaviaefolium SENDT.	---	1,65	---
S. decipiens OPIZ	---	0,89	---
S. decurrens WALL.	---	1,07	---
S. fontanesianum SCHRANK	---	1,28	---
S. gracile	0,05	0,91	---
S. guineense LAM.	---	1,06	---
S. humistratum RSHAW.	---	0,67	---
S. intrusum SORIA	---	1,06	---
S. judaicum BESS.	---	1,14	---
S. luteum MILL.	---	1,32	---
S. luteum ssp. alatum MILL.	---	0,84	---
S. melanocerasum ALL.●	---	0,45	---
S. miniatum BERNH.	---	0,48	---
S. nigrum L.●	---	1,28	---
S. nitidibaccatum BITT.	0,15	1,83	---
S. nodiflorum JACQ.	0,32	1,26	---
S. ochroleucum BAST.	0,20	1,79	---
S. oleraceum DUN.	0,13	0,65	---
S. olgae POJARK.	---	0,33	---
S. ottonis HYL.	---	1,80	---
S. quitoense LAM.	0,08	0,76	---
S. retroflexum DUN.	---	0,65	---

Fortsetzung Tab. 2:

A r t	Durchschnittsgehalt in % v. TG		
	Sapogenin		Alkaloid
	Diosgenin	Tigogenin	Solasodin
S. sublobatum WILLD.	---	0,33	---
S. triflorum NUTT.	0,56	---	---
S. tripartitum DUN.	0,33	---	---
S. villosum MILL.	---	1,35	---
S. villosum var. alatum MOENCH.	---	0,55	---
S. zelenitzkii POJARK.	---	0,43	---

Für die besonders gekennzeichneten Arten werden in der Literatur identifizierte Sapogeninfunde angegeben.

Bei den angegebenen Gehalten handelt es sich um die Durchschnittswerte aller berücksichtigter Herkünfte, da sich die Herkünfte untereinander nur in der Quantität der gebildeten Inhaltsstoffe unterscheiden.

Aus der Übersicht in Tab. 2 ergibt sich ein einheitliches Bild für das Vorkommen von Steroidsapogeninen innerhalb der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.]. Alle Blattproben der untersuchten Vertreter enthalten, in z.T. beträchtlichem Umfang, Sapogenine der 25 R - Reihe, nämlich Tigogenin oder Diosgenin, oder beide gemeinsam.

Solasodin fehlt in allen untersuchten Blattproben (vgl. Abb. 5).

Bei drei der hier aufgelisteten Arten (S. luteum MILL., S. nodiflorum JACQ. und S. triflorum NUTT.) konnten, die in der Literatur aufgeführten Sapogeninvorkommen (VÁGÚJFALVI/HELD/TÉTÉNYI, 1966 und AURICH et al., 1966), als Diosgenin und Tigogenin identifiziert werden.

Für 26 weitere Arten werden erstmals Steroidsapogenin-Vorkommen

nachgewiesen und identifiziert.

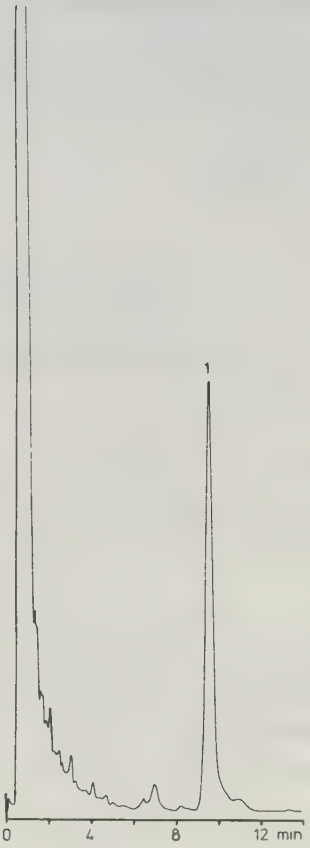


Abb. 5: Gaschromatogramm eines Blattextraktes von Solanum luteum MILL.
1 - Sapogeninpeak (Tigogenin).

2.2 Diskussion der Ergebnisse

Über das Vorkommen von Steroidalkaloiden in Pflanzen der Gattung Solanum, Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] liegen eine große Anzahl von Daten vor (Zusammenfassungen bei SCHREIBER, 1968; HERBERT, 1974, 1975 und HARRISON, 1976).

Dagegen liegen über das Vorkommen von Steroidsapogeninen in

Pflanzen derselben Sektion nur die Berichte von CERNY/LABLER (1958), VARSHNEY/SHARMA (1965) und VARSHNEY/DUBE (1970) vor. In diesen Arbeiten konnten für vier Arten der Sektion Solanum das Vorkommen von Tigogenin, davon in Solanum nigrum L. zusätzlich das von Diosgenin, belegt werden.

AURICH et al. (1966, 1967) und VÁGÚJFALVI/HELD/TÉTÉNYI (1966) konnten in vier weiteren Arten der Sektion Solanum den qualitativen Nachweis auf Sapogenine erbringen, ohne diese jedoch zu identifizieren.

Mit der vorliegenden Arbeit kann gezeigt werden, daß den Steroidsapogeninen innerhalb der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] eine weit gewichtigere Rolle zukommt, als diese in der Literatur bisher zum Ausdruck kommt.

Es muß verwundern, daß dieser Sachverhalt nicht schon früher entdeckt wurde, denn für 2/3 der hier bearbeiteten Arten werden in der Literatur Alkaloidvorkommen angegeben.

Die Ursache hierfür ist vor allem darin zu suchen, daß die meisten Autoren in erster Linie die "basischen Saponine", also die Steroidalkaloide, untersuchten und ihre Extraktionsverfahren dementsprechend einrichteten. Wie bereits unter B 6.2 beschrieben, wurde bei der Alkaloidextraktion von den meisten Bearbeitern mit verdünnten Säuren, wie Essigsäure, Oxalsäure oder Salpetersäure gearbeitet. Bei diesem Verfahren wurden die Sapogenine nicht, oder nur in geringem Umfang mitextrahiert.

Nicht zufällig liegen Berichte über Vorkommen von Steroidsapogeninen nur von Autoren vor, die bei der Extraktion Methanol, oder Äthanol anstelle der verdünnten Säuren verwendeten.

In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb das Lösungsmittel für die Extraktion so gewählt, daß es beiden Substanzklassen (Alkaloiden und Sapogeninen) gerecht wurde.

An den Ergebnissen in Tab. 2 fällt auf, daß in allen Blattproben Solasodin, das als Hauptalkaloid der Sektion Solanum [Morella

(DUN.) BITT.] angesehen werden kann (HEGNAUER, 1964), fehlt. Daß die Alkaloide bei den hier vorgenommenen Untersuchungen übersehen wurden, kann, bei der angewandten, empfindlichen Methode, ausgeschlossen werden.

Vielmehr decken sich die eigenen Befunde mit den Angaben von SCHREIBER (1958) und BOGNÁR/MAKLEIT (1965), wonach die Blätter vieler Pflanzen aus dem Solanum nigrum - Komplex praktisch alkaloidfrei sind.

Die Angaben von VÁGÚJFALVI/HELD/TÉTÉNYI (1966), wonach bei gemeinsamem Vorkommen von neutralen und basischen Saponinen (Alkaloide) in Solanum-Arten das Verhältnis stets zugunsten der basischen Komponente hin verschoben ist, werden durch die hier vorgelegten Ergebnisse widerlegt. Die Autoren geben an:" in den meisten Fällen fand man zwischen den neutralen und basischen Aglykonen Verhältnisse von 1 : 100 bis 1 : 1 000 und sogar 1 : 10 000; nur in einigen Ausnahmefällen erhielt man ein 1 : 1 oder größeres Verhältnis." Die Aussage dieser Autoren bezieht sich auf die Analyse von Blattproben, wo, nach eigenen Untersuchungen - zumindest innerhalb der Sektion Solanum - immer der Sapogeninanteil deutlich dominiert.

Da das gesättigte Tigogenin den Hauptanteil der Sapogenine ausmacht, haben die Blätter der untersuchten Arten-Gruppe aus der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] keine Bedeutung als potentielle Steroid-Rohstoffquellen.

2.3 Untersuchung des Steroidalkaloid- und -sapogenin-Gehaltes unreifer Früchte bei Vertretern der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.]

Aus der nachfolgenden Tab. 3 ist zu entnehmen, daß in allen untersuchten Pflanzen des Solanum nigrum - Komplexes Sapogenine gefunden wurden (entweder Diosgenin oder Tigogenin, oder beide zusammen.

In 86 % der hier untersuchten Arten wurde Solasodin gefunden.

Tab. 3: Steroidalkaloid- und -sapogeningehalt in unreifen Früchten von Vertretern der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.]

Art	Durchschnittsgehalt in % v. TG		
	Sapogenin		Alkaloid
	Diosgenin	Tigogenin	Solasodin
S. aggregatum JACQ.	0,32	0,11	---
S. alatum MOENCH.	0,14	0,14	0,63
S. americanum MILL.	0,11	0,08	0,38
S. atriplicifolium GILL.	0,24	0,22	0,66
S. boerhaviaefolium SENDT.	0,22	0,17	0,15
S. decipiens OPIZ●	0,13	0,11	0,95
S. decurrens WALL.●	0,09	0,05	0,43
S. fontanesianum SCHRANK●	0,58	0,10	0,04
S. gracile OTTO	0,12	0,04	0,13
S. guineense LAM.	0,43	---	---
S. intrusum SORIA	0,15	0,02	0,01
S. judaicum BESS.	---	0,19	0,15
S. luteum MILL.	0,21	0,15	0,93
S. luteum ssp. alatum MILL.	0,11	0,14	0,74
S. melanocerasum ALL.	0,17	0,17	---
S. miniatum BERNH.	0,13	0,18	0,79
S. nigrum L.	0,19	0,15	0,68
S. nitidibaccatum BITT.	0,33	---	0,43
S. nodiflorum JACQ.	0,15	0,15	0,90
S. ochroleucum BAST.	0,18	0,17	1,13
S. olgae POJARK.●	0,10	---	0,80
S. ottonis HYL.	0,23	0,13	0,68
S. quitoense LAM.	0,41	0,20	---
S. retroflexum DUN.●	0,20	0,23	0,93
S. sublobatum WILLD.●	0,09	0,04	0,83
S. triflorum NUTT.	0,21	---	0,57
S. villosum MILL.	0,13	0,16	0,70
S. villosum var. alatum MOENCH.	0,18	0,19	0,58
S. zelenitzkii POJARK.●	0,05	0,06	0,19

Mit ● gekennzeichnete Arten: neue Alkaloid-Vorkommen

Das Vorkommen dieses Alkaloids aus der 25 R - Reihe war immer mit dem gleichzeitigen Vorhandensein von konfigurativ ebenfalls zur 25 R - Reihe gehörigen Steroidsapogeninen verbunden.

Bemerkenswert ist das, im Vergleich zu den Blättern, wesentlich häufigere Auftreten des ungesättigten Sapogenins Diosgenin in den unreifen Früchten, das oft auch mengenmäßig das gesättigte Tigogenin übertrifft.

In den unreifen Früchten ist der Anteil des Alkaloids in 3/4 der untersuchten Fälle quantitativ größer als der Sapogeningehalt und erreicht Werte bis zu 1,13 % bezogen auf das Trockengewicht. Dieser Sachverhalt kommt in Abb. 2 (Kap. B 6.4) am Beispiel von Solanum alatum MOENCH. zum Ausdruck.

Das Verhältnis von Sapogenin : Alkaloid beträgt bei gleichzeitigem Vorkommen im Durchschnitt 1 : 3.

Für sieben in Tab. 3 besonders gekennzeichnete Vertreter der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] wird erstmals das Vorkommen von Solasodin angegeben.

2.4 Diskussion der Ergebnisse

Das einzige gefundene Alkaloid aus den Extrakten grüner Beeren ist das Solasodin. Es ist daher zur chemischen Charakterisierung der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] geeignet.

Da der Solasodingehalt der unreifen Früchte bei Vertretern des Solanum nigrum - Komplexes starken Schwankungen unterliegt (0 - 1,13 %), ist es nicht erstaunlich, daß "Solanum nigrum" (sensu latissimo) bezüglich seiner Giftigkeit einen sehr unterschiedlichen Ruf hat.

Die Untersuchungsergebnisse von SCHREIBER (1968) an unreifen Früchten dieser Arten-Gruppe decken sich mit den eigenen Beobachtungen, wonach viele Sippen praktisch alkaloidfrei sind.

Nach den hier vorliegenden Ergebnissen enthalten die alkaloidfreien Sippen innerhalb des Solanum nigrum - Komplexes ausschließlich Sapogenine. Andere führen Solasodin nur noch in den unreifen Früchten. Weit geringer scheint die Anzahl der Sippen zu sein, die in allen Organen der Pflanze Solasodinführung aufweisen.

Beim chemischen Sippenvergleich muß die unterschiedliche Alkaloid- und Sapogeninführung verschiedener Teile einer Pflanze, insbesondere bei Früchten, gleichzeitig deren Entwicklungszustand berücksichtigt werden.

Da in einigen Sippen der Sektion Solanum Solasodin ausschließlich in den unreifen Früchten auftritt, muß man für die Früchte selbst die Fähigkeit zur alleinigen Alkaloidbiosynthese annehmen. WILLUHN (1969) konnte durch Pfropfungsversuche zeigen, daß die Alkaloide in den Blättern einer bestimmten chemischen Rasse von Solanum dulcamara L. nicht in die Früchte einwandern.

Während bei den Blättern die Sapogenine, mengenmäßig und bezüglich ihres Vorkommens, klar dominieren, spielt das Alkaloid Solasodin in den unreifen Früchten, zumindest quantitativ, häufig eine gewichtigere Rolle.

Auf die Bedeutung des gemeinsamen Vorkommens dieser biogenetisch eng verwandten Inhaltsstoffe soll später eingegangen werden.

Beim Vergleich mit den Literaturangaben fällt auf, daß das innerhalb der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] vorkommende Solasodin wie die für die gleiche Sektion nachgewiesenen Sapogenine Diosgenin und Tigogenin gleichermaßen konfigurativ der 25 R - Reihe zugehören. Yamogenin und Neotigogenin, bzw. Tomatidenol, welche 25 S - Konfiguration besitzen, konnten weder in der Literatur noch in der eigenen Arbeit für diese Sektion nachgewiesen werden.

SANDER (1963) gibt an, daß normalerweise in den Solanum-Arten Spirosolanole und Spirostanole nur einer sterischen Reihe vor-

kommen. So sind die Taxa Lycopersicon und Tuberarium durch Aglyka der 25 S - Reihe gekennzeichnet, während alle übrigen Arten Aglyka der 25 R - Reihe enthalten. Eine Ausnahme stellt die Sektion Dulcamara dar, in der Steroide der S- und R - Reihe vorkommen.

Die Steroidsapogenine der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] fügen sich bezüglich ihrer Konfiguration gut in die von SANDER (1963) aufgestellte Regel (s.o.) ein, bei deren Ableitung, mit Ausnahme der Sektion Dulcamara, nur eine vergleichende Betrachtung über die Konfiguration der Steroidalkaloide angestellt wurde.

Da bisher nur die Arbeiten von VARSHNEY/SHARMA (1966) bzw. VARSHNEY/DUBE (1970) über das Vorkommen von Diosgenin und Tigogenin (neben Solasodin) in den unreifen Früchten von Solanum nigrum L. berichten, wird in der vorliegenden Arbeit erstmals an 27 weiteren Vertretern der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] die weite Verbreitung dieser Inhaltsstoffe auch in den Früchten gezeigt.

Mit den Ergebnissen dieser Untersuchungen kann schließlich eine bereits von SCHREIBER (1963) angezweifelte Angabe von GRACZA/SZÁSZ (1962) als unzutreffend bewiesen werden. Die Autoren geben für "Solanum pitidibaccatum BITT." (sic!) den Nachweis von Tomatidin an. Die eigenen Untersuchungen erbrachten für die Art Solanum nitidibaccatum BITT. - diese Art sollte wohl bezeichnet werden - den eindeutigen Nachweis auf Solasodin. Tomatidin wurde für die Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] , außer in dem o.a. Fall, noch nie angegeben und ist das kennzeichnende Alkaloid der Lycopersicum-Gruppe.

Das angeführte Beispiel zeigt, wie wenig Sorgfalt bei vielen Bearbeitern auf eine korrekte Determinierung und Nomenklatur verwendet wurde. Allein 17 von 257 der bei SCHREIBER (1968) aufgelisteten, bearbeiteten Solanum-Arten (= 6,6 %) sind nicht im Index kewensis aufgeführt. Entsprechend kritisch sind viele Literaturbefunde zu bewerten.

Bei dem von AURICH et al. (1966) für Solanum intrusum SORIA angegebenen, nicht identifizierten Steroidalkaloid, muß es sich nach den eigenen Untersuchungen um Solasodin handeln.

3. Untersuchungen des Steroidalkaloid- und -sapogenin-Gehaltes von Solanum atriplicifolium GILL., Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.], im Verlaufe einer Vegetationsperiode.

Die unter B 2.1 und 2.3 durchgeführten Untersuchungen an Blättern und unreifen Früchten verschiedener Arten aus der Sektion Solanum Morella (DUN.) BITT. zeigen, daß der Gehalt an Steroidalkaloiden und -sapogeninen sowie das Mengenverhältnis der verschiedenen Inhaltsstoffe zueinander sehr variabel sind. Aufgabe der vorliegenden Untersuchung war es deshalb, die Konzentrationsänderungen der verschiedenen Steroidkomponenten eines typischen Vertreters des Solanum nigrum - Komplexes im Verlaufe einer Vegetationsperiode und in verschiedenen Organen zu verfolgen.

Für diese Untersuchungen wurde Solanum atriplicifolium GILL. ausgewählt, deren Blätter Diosgenin und Tigogenin, und deren unreife Beeren noch zusätzlich Solasodin als Alkaloidkomponente enthalten.

Die wöchentlich entnommenen, zufällig ausgewählten Pflanzenproben wurden in Blatt-, Stengel-, Blüten- und Fruchtanteile zerlegt, wobei innerhalb der Blätter noch eine zusätzliche Klassifizierung nach dem Blattentwicklungsstadium vorgenommen wurde. Bei den Beeren wurden reife und unreife Früchte bestimmter Größe getrennt.

Der Versuch begann mit der Aussaat (Woche O) und umfaßte einen Zeitraum von 27 Wochen. Mit dem Abfallen der älteren Blattentwicklungsstadien und der vollständigen Fruchtreife wurden die Probeentnahmen abgebrochen. Die erste Probenahme erfolgte nach der 4. Woche mit dem Auftreten der ersten Keimlinge.

Der Verlauf des Gesamtgehalts an Steroidalkaloiden und -sapogeninen im Verlauf einer Vegetationsperiode ist in Abb. 6 dargestellt.

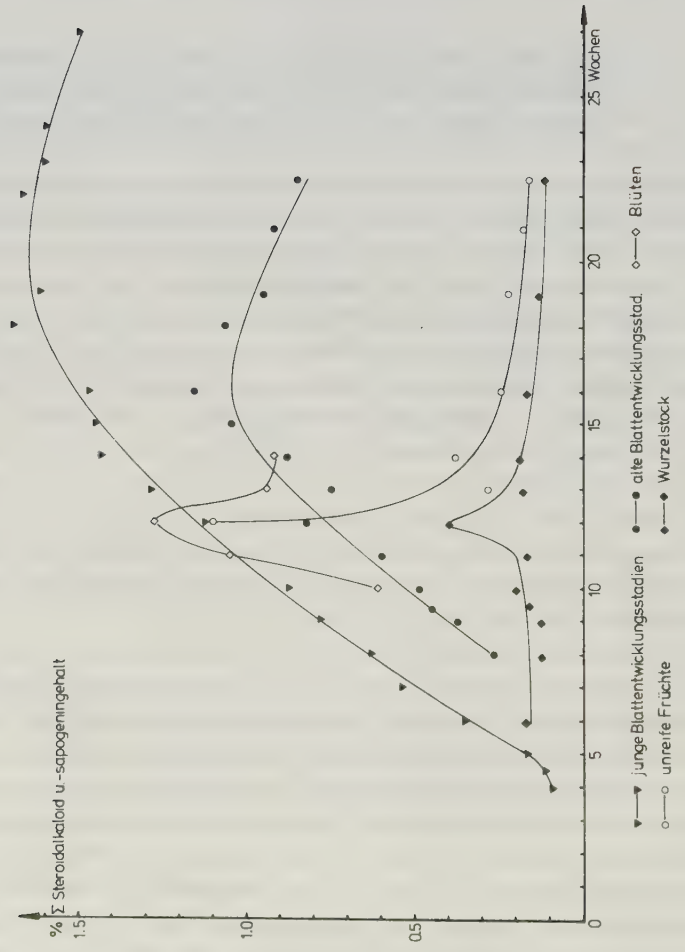


Abb. 6: Gesamtgehalt an Steroidalkaloiden und -sapogeninen verschiedener Organe von S. atriplicifolium GILL. in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand der Pflanze

Der Probenumfang mußte zu Beginn des Versuches naturgemäß sehr groß, im Laufe der fortschreitenden Entwicklung und der damit verbundenen Inanspruchnahme von Gewächshausfläche, aus Platzgründen immer kleiner gewählt werden. Bei voll entwickelten Pflanzen wurde eine Probenanzahl von vier nie unterschritten. Diesem Umstand ist es zuzuschreiben, daß die Meßwerte gegen Ende der Vegetation eine größere Streuung aufweisen.

3.1 Verlauf des Steroidsapogenin-Gehaltes in den Blättern

Wie bereits unter B 6.1.2 beschrieben, wurden die Blätter in verschiedene Größenklassen, als Maß für ihren Entwicklungszustand, eingeteilt. Die Blätter mit einer Länge unter 50 mm werden als "junge Blattentwicklungsstadien", den "alten Blattentwicklungsstadien" mit einer Länge der Blattspreite zwischen 80 und 160 mm entgegengestellt.

Zunächst soll nur der Verlauf des Gesamtsapogenin-Gehaltes - bei Blättern von Solanum atriplicifolium GILL. handelt es sich ausschließlich um die Steroidsapogenine Diosgenin und Tigogenin (vgl. C 2.1) - verfolgt werden. Auf die Schwankungen des Diosgenin/Tigogenin-Verhältnisses, im Verlauf der Vegetationsperiode, soll erst später eingegangen werden.

3.1.1 Junge Blattentwicklungsstadien

Aus Abb. 6 ist zu entnehmen, daß der Gehalt an Steroidsapogeninen in den jungen Blattentwicklungsstadien von der 5. bis zur 18. Woche stark zunimmt. In den folgenden 9 Wochen stellt sich eine relative Abnahme des Gehaltes ein.

3.1.2 Alte Blattentwicklungsstadien

Der Steroidsapogenin-Gehalt dieser Blätter verläuft parallel zu dem der jungen Blattentwicklungsstadien, nur wird in diesem Fall ein niedrigeres Sapogenin-Niveau erreicht.

3.2 Verlauf des Steroidsapogenin-Gehaltes in den Wurzeln

Auch in den Wurzeln von Solanum atriplicifolium GILL. konnte keine Alkaloidführung nachgewiesen werden. Der in Abb. 6 aufgetragene Gehalt setzt sich ausschließlich aus Tigogenin und Diosgenin zusammen und liegt, mit Ausnahme der 12. Woche, ziemlich konstant auf einem Niveau zwischen 0,1 und 0,2 % bezogen auf das Trockengewicht. In der 12. Woche wird mit annähernd 0,4 % ein deutlich höherer Wert erreicht. Dieser Wert, während der Blütezeit, fällt zusammen mit dem Maximum des Gehaltes in den Blüten.

3.3 Verlauf des Steroidalkaloid- und -sapogenin-Gehaltes in den Blüten

In der 10. Woche nach der Aussaat setzte die Blüte ein. Die zu diesem Zeitpunkt entnommene Probe enthielt u.a. geringe Mengen an Solasodin. In allen weiteren Proben konnten ausschließlich Diosgenin und Tigogenin nachgewiesen werden. Der Gesamtgehalt stieg vom Blühbeginn (0,6 %) bis zum Maximalwert (1,27 %) in der 12. Woche an und sank dann, gegen Ende der Blüte, auf einen Gehalt von ca. 0,9 % ab (14. Woche). In der 15. Woche waren alle Pflanzen abgeblüht.

3.4 Steroidalkaloid- und -sapogenin-Gehalt im Verlaufe der Fruchtentwicklung

Die ersten unreifen Früchte (Durchmesser 7-9 mm) konnten in der 12. Woche untersucht werden. Wie bereits unter C 2.3 (Tab. 3) dargestellt, enthalten die unreifen Früchte von Solanum atriplicifolium GILL. Solasodin, Diosgenin und Tigogenin.

Der Gehalt der grünen Früchte nahm von der 12. bis etwa zur 22. Woche (letztes Auftreten von grünen Beeren) rapid von 1,12 % auf 0,22 % ab.

Vollreife Früchte wiesen nur noch einen Gehalt von 0,08 % Steroidsapogenin (Diosgenin + Tigogenin) auf. Solasodin fehlte voll-

kommen.

3.5 Untersuchung des Anteils von Diosgenin und Tigogenin bei verschiedenen Blattentwicklungsstadien von Solanum atriplicifolium GILL.

In Abb. 7 sind die Steroidsapogeningehalte verschiedener Blattentwicklungsstadien aufgetragen. Dabei wurden die Konzentrationsverhältnisse der beiden Sapogenine Diosgenin und Tigogenin berücksichtigt.

Es ergibt sich ein deutliches Gehaltsgefälle von den jungen Blättern (l = 30 mm) zu den voll entwickelten Blättern (l = 110 mm).

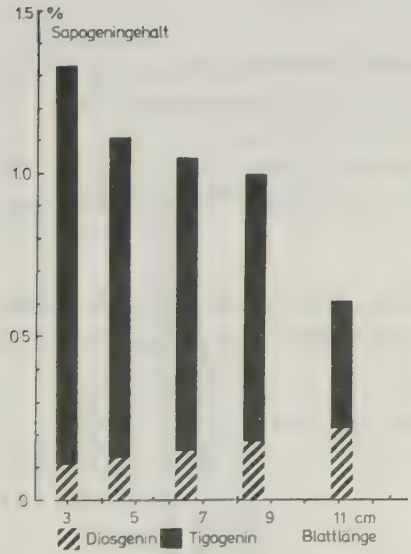


Abb. 7: Sapogeningehalt verschiedener Blattentwicklungsstadien von Solanum atriplicifolium GILL. (13. Woche der Vegetationsperiode).

Gleichzeitig nimmt aber der Mengenanteil des ungesättigten Diosgenin am Gesamtsapogeningehalt in gleicher Richtung deutlich zu (von 8,5 % vom Gesamtgehalt bei l = 30 mm auf 36 % bei l = 110 mm).

Dasselbe Bild ergab sich für die Blattanalysen der übrigen Un-

tersuchungswochen.

Die Schwankungen des Mengenverhältnisses von Diosgenin und Tigogenin im Verlauf der Vegetationsperiode sind in Tab. 4 wiedergegeben.

Woche der Vegetationsperiode	9.	10.	11.	12.	13.	14.	18.	22.	25.
Diosgeninanteil in % v. Gesamtsapog.-Geh.	19	18	17,1	14,8	36	27	17,8	17,5	15
Tigogeninanteil in % v. Gesamtsapog.-Geh.	81	82	82,9	85,2	64	73	82,2	82,5	85

Tab. 4: Anteil des Diosgenins bzw. Tigogenins am Gesamtsapogeningehalt der Blätter von Solanum atriplicifolium GILL. im Verlauf einer Vegetationsperiode.

Der Anteil des Diosgenins am Gesamtsapogeningehalt in den ältesten Blattentwicklungsstadien nimmt Werte zwischen 15 und 36 % an.

In der 13. und 14. Woche der Vegetationsperiode liegt der Diosgeninanteil deutlich über dem durchschnittlichen Niveau von ca. 18 %.

3.6 Untersuchung des Anteils von Diosgenin und Tigogenin in Wurzeln von Solanum atriplicifolium GILL. im Verlauf der Vegetationsperiode

In Tab. 5 sind die Schwankungen des Mengenverhältnisses von Diosgenin und Tigogenin in den Wurzeln der Untersuchungspflanzen wiedergegeben.

Woche der Vegetationsperiode	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	19.
Diosgeninanteil in % vom Gesamtgehalt	43,8	36,4	45,0	45,5	40,0	41,0	20,0	35,9	28,3
Tigogeninanteil in % vom Gesamtgehalt	56,2	63,6	55,0	54,5	60,0	59,0	80,0	64,1	71,7

Tab. 5: Anteil von Diosgenin bzw. Tigogenin in den Wurzeln von Solanum atriplicifolium GILL.

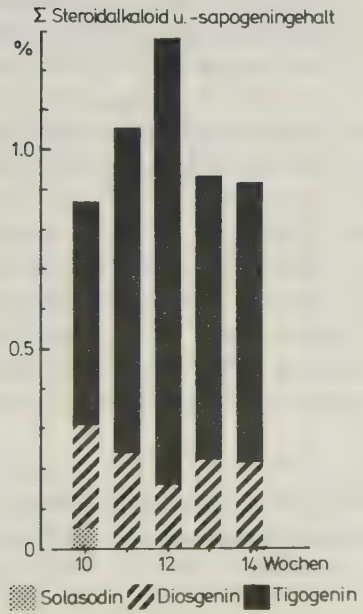
Der Anteil des Diosgenins am Gesamtsapogeningehalt der Wurzeln schwankt zwischen 20 und 45 %. Der Maximalwert liegt mit über 45 % sehr hoch, verglichen mit den Werten, die in den Blättern erreicht werden.

Auffallend ist der geringe Diosgeninanteil in der 12. Woche, in welcher der Sapogeningehalt, mit annähernd 0,4 % vom Trockengewicht, seinen Maximalwert annimmt.

Die absoluten Mengen an Diosgenin sind jedoch, bei Gehalten zwischen 0,1 und 0,2 %, sehr gering.

Noch geringer waren die Gehalte der Sproßachse. Die Werte lagen ziemlich konstant bei ca. 0,05 %, wobei sich dieser Gehalt aus etwa gleichen Teilen Diosgenin und Tigogenin zusammensetzte.

3.7 Untersuchung des Gehalts an Diosgenin, Tigogenin und Solasodin bei Blüten von Solanum atriplicifolium GILL. im Verlauf der Vegetationsperiode.



Wie bereits unter Kap. C 3.3 angegeben, enthielten die bei Blühbeginn in der 10. Woche entnommenen Blütenproben neben Diosgenin und Tigogenin geringe Mengen an Solasodin (ca. 0,05 %). Im weiteren Verlauf der Blüte konnte dieses Alkaloid nicht mehr nachgewiesen werden (vgl. Abb. 8).

Abb. 8:
Entwicklung der Diosgenin-, Tigogenin- und Solasodingehalte in Blüten von S. atriplicifolium GILL im Verlauf einer Vegetationsperiode.

Der Gesamtgehalt der untersuchten Inhaltsstoffe nahm vom Blühbeginn bis zur Mitte der Blüte (12. Woche) deutlich zu und sank dann zurück auf einen Gehalt von etwa 0,9 % beim Auftreten der letzten Blüten (14. Woche).

Der Anteil der ungesättigten Komponenten Diosgenin und Solasodin ist bei Blühbeginn mit 35 % vom Gesamtgehalt maximal, in der Mitte der Blüte (12. Woche) mit nur 13 % minimal. Die restlichen Werte liegen mit 23-24 % etwa in der Mitte der Extremwerte.

3.8 Untersuchungen des Gehalts an Diosgenin, Tigogenin und Solasodin in unreifen Früchten von Solanum atriplicifolium GILL. im Verlauf der Vegetationsperiode.

Schon unter C 2.3 wurde gezeigt, daß das Alkaloid Solasodin charakteristischer Bestandteil der unreifen Früchte von Arten der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] ist.

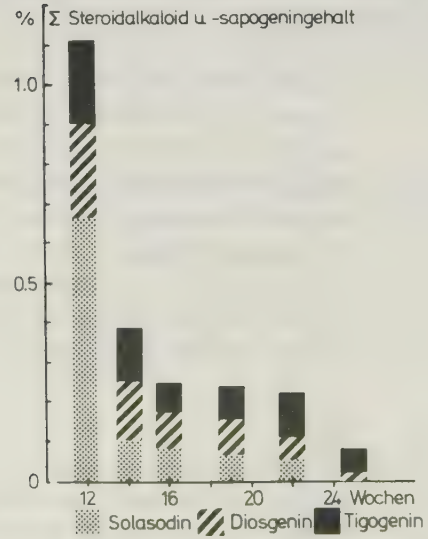


Abb. 9 zeigt den Verlauf des Alkaloid- und Sapogeningesamtgehaltes gleicher Fruchtentwicklungsstadien mit fortschreitender Entwicklung der Pflanzen am Beispiel von Solanum atriplicifolium GILL.

Abb. 9:
Entwicklung des Diosgenin-, Tigogenin- und Solasodingehaltes in unreifen Früchten von Solanum atriplicifolium GILL. im Verlauf der Vegetationsperiode.

Die ersten auftretenden (unreifen) Früchte weisen einen maximalen Gesamtgehalt von 1,12 % auf.

Kennzeichnend ist die enorme Abnahme des Gehaltes im Laufe der weiteren Entwicklung. Etwa in der 22. Woche (letztes Auftreten von unreifen Früchten) wird der Minimalgehalt von ca. 0,2 % erreicht.

Der Gehalt vollreifer Früchte wurde zum Vergleich aufgetragen (25. Woche). Auffallend ist der vollkommene Verlust von Solasodin. Die Summe des Diosgenin- und Tigogeningehaltes erreicht nur noch knapp 0,1 %.

Verbunden mit der starken Abnahme des Gesamtgehaltes der untersuchten Inhaltsstoffe im Verlauf der Entwicklung der Pflanze ist ein dramatisches Absinken des Anteils der ungesättigten Komponenten Diosgenin und Solasodin am Gesamtgehalt. Ausgehend von über 80 % des Gesamtgehaltes (12. Woche), nimmt der Anteil der Δ^5 - Verbindungen auf ca. 50 % ab. In den reifen Früchten dominiert schließlich Tigogenin (5α).

3.9 Diskussion der Ergebnisse

Aus der hier bearbeiteten Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] liegen bisher keine ontogenetischen Untersuchungen vor.

MURAJEVA/KONDRATENKO/BRINK (1964) und LANCASTER/MANN (1975) untersuchten die Solasodingehalte von Blättern, Wurzeln, Sproß und Beeren von Solanum laciniatum AIT. (Subgenus Archaesolanum). Darüberhinaus existieren Studien über Abbau und Bildung von Tomatin in Tomatenpflanzen von SANDER (1956a, 1961) bzw. SANDER/ANGERMANN (1961) und über die Konzentrationsänderungen des Steroidgehaltes bei Solanum dulcamara L. während der Fruchtentwicklung (WILLUHN, 1967). VÁRADI/CSAPÓ/HALMAI (1966) geben für Solanum laciniatum eine diurnale Schwankung des Solasodingehaltes an.

AURICH et al. (1966) fanden im Rahmen eines orientierenden Alkaloid-Screenings Alkaloidvorkommen in den Wurzeln von Solanum luteum MILL., ohne dasselbe zu identifizieren oder quantitativ zu bestimmen. In weiteren Arten konnten sie keine Alkaloide finden.

Diese Angaben stimmen mit eigenen Befunden überein, wonach für Solanum atriplicifolium GILL. in den Wurzeln kein Solasodin gefunden werden konnte.

Für die Sapogeningehalte der Blätter ergibt sich eine deutliche Abhängigkeit vom Entwicklungszustand der Pflanze. Mit der Beendigung des Wachstums der Pflanzen ist keine weitere Gehaltszunahme zu verzeichnen. Der erreichte Gehalt nimmt erst gegen Ende der Vegetationsperiode ab. Übereinstimmende Ergebnisse wurden von LANCASTER/MANN (1975) erzielt.

Da die Gehalte in den jüngeren Blättern stets höher sind als in voll entwickelten Blättern, liegt es nahe, die jungen Blätter als Biosyntheseorte für die Steroidsapogenine anzusehen. Dieser Sachverhalt kann jedoch auch mit der Annahme einer erhöhten Akkumulation der Inhaltsstoffe in jüngeren Blättern erklärt werden. Es bleibt vorläufig noch offen, welche der beiden Annahmen zutrifft, da die hier angewandte Methode nicht zwischen beiden Möglichkeiten zu unterscheiden vermag.

Über die Frage nach dem Biosyntheseort der Steroidalkaloide und -sapogenine existieren kaum Informationen. SANDER (1956a) gibt an, daß als Synthese- und Akkumulationsort für Tomatin hauptsächlich meristematisches Gewebe (vornehmlich in apikalen Sproßteilen) anzusehen sind. Die oben dargestellten Befunde innerhalb der Sektion Solanum sprechen für diese Annahme.

GUSEVA/PASESHNICHENKO (1958) konnten durch Markierungsversuche an Kartoffeln den Nachweis erbringen, daß das Glykoalkaloid Solanin in den Blättern gebildet wird.

Ob die in Blättern, Wurzeln und Früchten beobachteten Schwankungen des Diosgenin/Tigogenin-Verhältnisses durch Konversion des einen Stoffes in den anderen stattfindet, oder ob beide Verbindungen aus einer gemeinsamen Vorstufe während der Entwicklung in verschiedenem Umfang gebildet werden, kann mit Hilfe der vorliegenden Ergebnisse nicht entschieden werden.

Die biogenetisch enge Zusammengehörigkeit der Steroidalkaloide und -sapogenine zeigt sich darin, daß die Steroidalkaloide stets von Steroidsapogeninen begleitet werden, die sich am C-25-Atom konfigurativ immer entsprechen. Es wird angenommen, daß beide über ein gemeinsames Intermediärprodukt synthetisiert werden (TSCHESCHE/PRIESTERT, 1975). Über die Herkunft des Stickstoffs in den Steroidalkaloiden existieren bisher keine Angaben. Nach HEGNAUER (1964) sind die Steroidalkaloide keine Alkaloide im strengen Sinne, sondern Pseudoalkaloide, die, biogenetisch betrachtet, einfache Derivate von im allgemeinen stickstofffreien Stoffen sind.

Da der lokale Sapogeningehalt in der Wurzel stets gering bleibt, ist die Wurzel sicher nicht ein Akkumulationsort für Steroidsapogenine. Andererseits kann die Wurzel als möglicher Biosyntheseort, zumindest für Steroidalkaloide, ziemlich sicher ausgeschlossen werden, da in ihr in keinem Entwicklungsstadium Alkaloide, auch nicht in Spuren nachzuweisen waren, obwohl die untersuchte Solanum-Art in den unreifen Früchten Solasodin führte. WILSON (1959) nimmt für Steroidalkaloide (im Gegensatz zu anderen Alkaloiden) einen Transport vom Sproßsystem zur Wurzel an.

Der Gehalt der Blüten erreichte in der Mitte der Blühperiode sein Maximum. Nur die ersten Blüten wiesen geringe Mengen an Solasodin auf. SANDER und ANGERMANN (1961) machten eine ähnliche Beobachtung. Sie stellten fest, daß der Tomatingehalt in den Fruchtknoten von Tomaten kurz nach der Bestäubung sein Maximum erreichte.

In den unreifen Beeren von Solanum atriplicifolium GILL. vollzieht sich ein rascher Abbau des Solasodin- und Diosgeningehaltes. Der Tigogeningehalt nimmt weniger stark ab. Daß es sich hierbei tatsächlich um einen Abbau handelt, konnte SANDER (1963) an isolierten Früchten von Solanum dulcamara L. zeigen. Auch durch Unterdrückung der reproduktiven Phase bei Tomatenpflanzen konnte der gleiche Autor (1956b) einen höheren Tomatingehalt in den Pflanzen erreichen.

WILLUHN (1967) gibt für das gleiche Untersuchungsobjekt eine Zunahme der "Rohsapogeninfraktion" im Verlauf der Fruchtreife an, bei gleichzeitiger Abnahme der Steroidalkaloidfraktion. Diese Aussage widerspricht vollkommen den hier vorliegenden Untersuchungsergebnissen, wonach für Alkaloide und Sapogenine eine deutliche Gehaltsabnahme beobachtet wurde. Die von WILLUHN (1967) gravimetrisch bestimmte "Rohsapogeninfraktion" mußte, nach der von ihm angewandten, unspezifischen Isolierungsmethode, u.a. noch einen beträchtlichen Anteil an Sterinen enthalten. Nach WILLUHN (1967) "gibt es Hinweise dafür, daß in der Fraktion der Rohsapogenine Abbauprodukte der Steroidalkaloide neben den unveränderten Steroidsapogeninen vorliegen. Die Hauptsapogenine Tigogenin und Yamogenin werden bei der Fruchtreife nicht abgebaut." Der erste Satz des Zitats zeigt, wie unspezifisch die Bestimmung der Steroidsapogenine erfolgte. Die zweite Aussage konnte mit den Methoden der hier zitierten Arbeit überhaupt nicht verifiziert werden. Bei den eigenen Untersuchungen wurde die Abnahme beider Steroidkomponenten jedenfalls mittels spezifischer Bestimmungsmethoden nachgewiesen.

4. Steroid-Screening bei Solanum-Arten außerhalb der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.]

Die Ergebnisse des Steroid-Screenings sind in Tab. 6 aufgeführt.

Untersucht wurden, mit Ausnahme von Solanum khasianum C.B. CLARKE, jeweils Blattproben.

Wie schon bei den Untersuchungen der Blattproben innerhalb der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.], fällt auch hier die, im Vergleich zur Alkaloidführung sehr viel häufigere Sapogeninführung auf. Sofern ein Alkaloidvorkommen gefunden wurde, war dies stets mit dem gleichzeitigen Auftreten von Sapogeninen verbunden.

Tab. 6: Steroidalkaloid- und -sapogeningehalt von Solanum-Arten außerhalb der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.]

Art	Durchschnittsgehalt in % v. TG		
	Sapogenin		Alkaloid
	Diosgenin	Tigogenin	Solasodin
S. abutiloides BITT. & LILLO	---	---	---
S. aethiopicum L.	---	---	---
S. argentinum BITT. & LILLO	0,05	Spur	---
S. aurantiacobaccatum DE WILD.	2,10	---	---
S. bahamense L.	0,73	---	Spur
S. balbisii DUN.	0,20	0,83	---
S. cervantesii LAG.	0,12	1,20	---
S. ciliatum LAM.	---	---	---
S. cinereum R.BR.	---	0,06	---
S. cinnamomeum SENDT.	---	---	---
S. citrullifolium A.BR.	0,38	---	---
S. coccineum JACQ.	---	---	---
S. cornutum LAM.	---	0,58	0,23
S. dombeyi DUN.	0,05	---	---
S. ferox BURM.	Spur	---	---
S. gibberulosum JUZ. & BUK.	---	---	---
S. giganteum JACQ.	---	---	---
S. gilo RADDI	0,53	---	---
S. hibiscifolium RUSBY	---	---	---
S. integrifolium POIR.	0,14	0,27	---
S. khasianum C.B.CLARKE	0,10	---	2,18(Fr.)
S. laciniatum AIT.	0,09	---	1,08
S. lidii SUNDING	0,06	0,09	---
S. linearifolium HERASIM.	0,06	---	0,77
S. lyratum THUNB.	0,31	0,09	0,08
S. marginatum L.	0,05	0,10	---
S. maroniense POIT.	0,29	0,74	---
S. mauritianum SCOP.	---	---	---
S. megacarpum KOIDZ.	0,35	---	---
S. muricatum AIT.	---	---	---
S. opacum A.BR. & BOUCHE	---	0,79	---
S. panduraeforme DRÊGE	0,11	---	---
S. paranense DUSÊN	0,32	0,18	0,09

Tab.6: (Fortsetzung)

Art	Durchschnittsgehalt in % v. TG		
	Sapogenin		Alkaloid
	Diosgenin	Tigogenin	Solasodin
S. persicum WILLD.	0,08	0,40	Spur
S. platense DIECKM.	1,05	---	0,55
S. pseudocapsicum L.	---	---	---
S. rantonnetii CARR.	---	0,65	---
S. simile F. MUELL.	0,15	---	0,95
S. stuckertii BITT.	---	---	---
S. tarijense HAWKES	0,05	0,04	---
S. tomentosum L.	0,04	0,03	---
S. vespertilio AIT.	0,09	---	0,09
S. tucumanense GRISEB.	---	---	---
S. xanthocarpum SCHRAD. & WENDL.	---	---	---

Außer den bereits bekannten Steroidrohstoffquellen S. khasianum C.B. CLARKE und S. laciniatum AIT., die sich durch hohe Solasodingehalte in den Früchten, bzw. in den Früchten und Blättern auszeichnen, konnte nur noch eine weitere potentielle Ersatzdroge für die bislang vorzugsweise zur Steroidgewinnung herangezogenen Dioscorea-Arten gefunden werden. Es handelt sich hierbei um die afrikanische Art Solanum aurantiacobaccatum DE WILD. (Rwanda, Cyangugu, Nyungwe; 2010 m. Leg: belg. Exped. der Université de Liège. Det.: P. Auquier/J. Lambinon, Université de Liège) mit einem Diosgeningehalt von bis zu 2,6 % in den Blättern (CARLE/ALFERMANN/REINHARD, 1977).

4.1 Ergänzende quantitative Studien an Solanum aurantiacobaccatum DE WILD.

Die Blätter einer einzelnen Solanum aurantiacobaccatum-Pflanze wurden zum gleichen Zeitpunkt geerntet, nach der Blattlänge klassifiziert und nach Klassen getrennt analysiert. Wie aus Abb. 10 hervorgeht, nimmt der prozentuale Diosgeningehalt der Blätter mit steigender Blattlänge ab. Ein übereinstimmendes

Ergebnis erbrachten schon die Untersuchungen an Solanum atriplicifolium GILL. (vgl. Abb. 7).

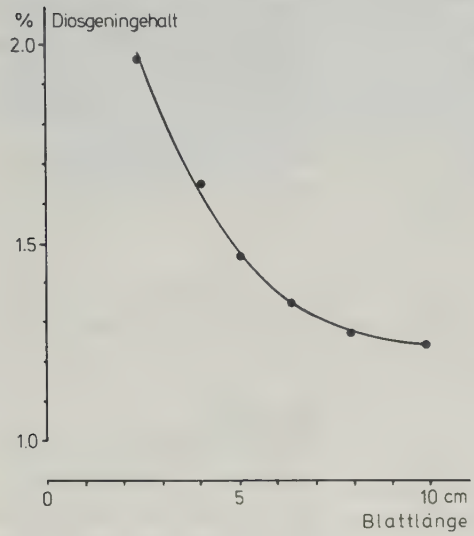


Abb. 10:
Abhängigkeit des Diosgeningehaltes von der Blattlänge bei S. aurantiacobaccatum DE WILD.
(Gehalt in % v. TG)

Um zu klären, ob dieser Effekt nur auf einen unterschiedlichen Wassergehalt der verschiedenen Blattentwicklungsstadien zurückzuführen ist, wurden Frisch- und Trockengewicht der, nach Größenklassen eingeteilten Einzelblätter, ermittelt. Abb. 11 zeigt, daß die Trockengewichte stets etwa 1/10 der entsprechenden Frischgewichte betragen, das Verhältnis von Frisch- zu Trockengewicht sich also unabhängig von der Blattlänge annähernd konstant verhält.

Schließlich wurde der absolute Diosgeningehalt pro Blatt ermittelt und in Abb. 12 wiedergegeben. Hieraus wird ersichtlich, daß die absoluten Gehalte mit zunehmender Blattlänge weiter zunehmen, wenngleich die in Prozent ausgedrückten Gehalte eine Abnahme vortäuschen.

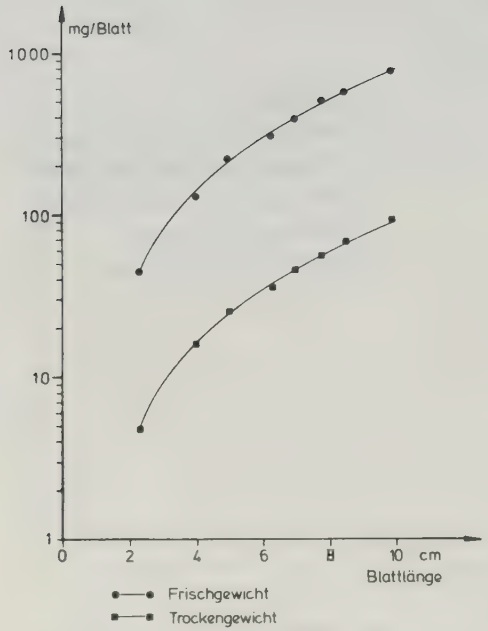
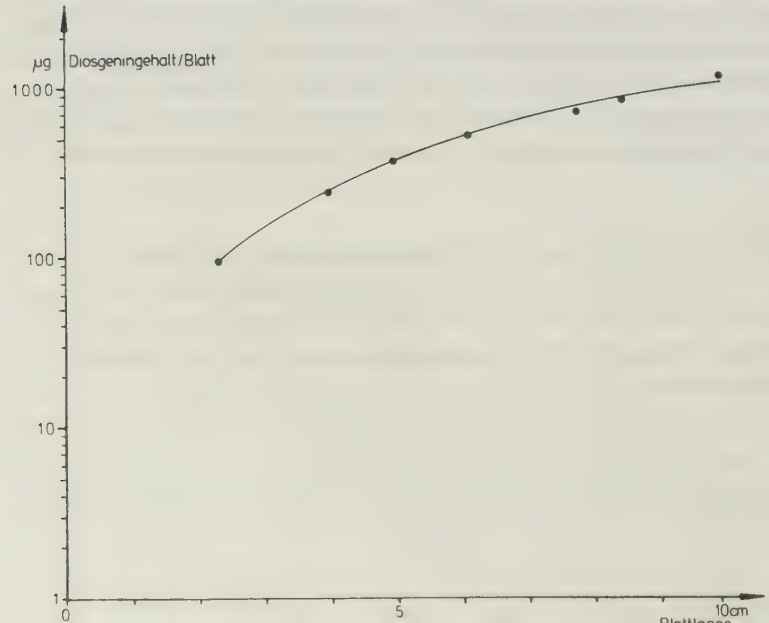


Abb. 11:
Frisch- und Trockengewichte von Einzelblättern in Abhängigkeit von der Blattlänge bei S. aurantiacobaccatum DE WILD.

Abb. 12:
Diosgeningehalt pro Einzelblatt in Abhängigkeit von der Blattlänge bei S. aurantiacobaccatum DE WILD.



4.2 Diskussion der Ergebnisse

Erste Beobachtungen über Steroidsapogenin-Vorkommen in Solanum--Arten außerhalb der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] wurden von MARKER (1943), SATO/LATHAM (1953), SCHREIBER (1957), CERNY/LABLER (1958) und SANDER (1961) gemacht. Weitere sporadische Angaben liegen aus den Jahren zwischen 1969 und 1977 vor (MOOKHERJEA/MATHEW, 1969; GUERREIRO et al., 1972; DÖPKE/MOLA/HESS, 1976; SEGAL/MILO-GOLDZWEIG/ZAITSCHEK,1977). Konsequent durchgeführte Sapogenin-Screening-Programme innerhalb der Gattung Solanum fehlten bislang.

Die hier vorliegende Untersuchung zeigt deutlich, daß auch bei Arten außerhalb des Solanum nigrum - Komplexes Sapogenine weit häufiger beobachtet werden können als Steroidalkaloide.

Wie am Beispiel von Solanum aurantiacobaccatum DE WILD. gezeigt, erscheint eine weitere Suche nach Steroid-Rohstoffquellen zur partialsynthetischen Gewinnung von Steroidhormonen innerhalb der Gattung Solanum erfolgversprechend.

Allerdings müßte bei weiteren Screening-Programmen den Steroidsapogeninen mehr Aufmerksamkeit geschenkt werden. Die Steroidsuche im Bereich der Gattung Solanum beschränkte sich bisher, meist schon methodisch bedingt, auf ein reines Alkaloid-Screening. Viele Arten, deren Alkaloidführung bereits untersucht wurde, müßten nochmals auf ihren Gehalt an Sapogeninen überprüft werden.

Mit den ergänzenden quantitativen Studien konnte gezeigt werden, daß der absoluten Diosgeninzunahme in den sich entwickelnden Blättern eine Abnahme im prozentualen Gehalt gegenübersteht. Es zeigte sich, daß nicht ein eventuell vorhandener unterschiedlicher Wassergehalt der verschiedenen Blattentwicklungsstadien für diesen Effekt verantwortlich ist, (denn beim Zugrundelegen des Trockengewichtes für den relativen Gehalt hätte beispielsweise ein niedriger Wassergehalt eine Abnahme zur Folge und umgekehrt). Da der absolute Gehalt an Diosgenin im Laufe des Blattwachstums noch zunimmt, liegt auch keine "Verdünnung" der bei

Wachstumsbeginn vorliegenden Diosgeninmenge vor. Aus den Untersuchungen ergibt sich, daß die Bildung des Diosgenins langsamer verläuft als die übrige Stoffproduktion im Verlauf der Blattentwicklung.

Diese Beobachtung legt nahe, die Blätter von Pflanzen der Gattung Solanum als Biosyntheseort für Steroidsapogenine anzusehen, wie dies bereits von SANDER (1956) für die Synthese von Steroidalkaloiden angenommen wurde.

5. Untersuchungen an Zellkulturen

Als Ausgangsmaterial zur Anlage von Callus-Kulturen sollten Pflanzen verwendet werden, die sich durch einen hohen Solasodingehalt auszeichneten. Es wurde davon ausgegangen, daß solche Pflanzen auch in Zellkulturen eine hohe Produktivität an diesem Inhaltsstoff aufweisen würden.

Inzwischen konnte FRIEDRICHSON (1979) aufzeigen, daß keine Korrelation zwischen dem Gehalt der Ausgangspflanze und dem der daraus gewonnenen Zellkulturen besteht.

Da Callus-Zellen nach allgemeiner Auffassung totipotent sind, sollte es gleichgültig sein, aus welchem Organ der alkaloidführenden Pflanze eine Zellkultur angelegt wird. Hierfür werden in der Literatur zahlreiche Beispiele angeführt (MOTHES, 1960). Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit angelegten Calli wurden daher ausschließlich aus Stengeln angelegt.

5.1 Screening des Pflanzenmaterials zur Anlage von Callus-Kulturen

Im Rahmen des durchgeführten Alkaloid-Screenings zur Auswahl geeigneter Pflanzen für die Zellkultur konnten, wegen der beschränkten Anbaufläche, nur 43 Solanum laciniatum-Pflanzen erfaßt werden.

Die Solasodingehalte dieser Pflanzen sind im folgenden, getrennt

nach Gewächshaus- und Freilandpflanzen, aufgeführt (Tab. 7).

Tab. 7: Solasodingehalte der im Gewächshaus kultivierten Solanum laciniatum-Pflanzen (in % v. TG)

Pfl.-Nr.	Solasodingehalt %	Pfl.-Nr.	Solasodingehalt %
383-01	0,99	383-14	0,75
383-02	0,52	383-15	0,93
383-03	0,45	383-16	0,39
383-04	0,84	383-17	0,95
383-05	0,43	383-18	1,16
383-06	0,64	383-19	0,80
383-07	0,66	383-20	0,77
383-08	0,72	383-21	0,50
383-09	0,58	383-22	0,68
383-10	1,04	383-23	0,58
383-11	0,45	383-24	1,05
383-12	0,72	383-25	0,68
383-13	1,03	C-22a	1,08

Tab. 8: Solasodingehalte der im Freiland kultivierten Solanum laciniatum-Pflanzen (in % v. TG)

Pfl.-Nr.	Solasodingehalt %	Pfl.-Nr.	Solasodingehalt %
383-26	0,64	383-34	0,77
383-27	0,86	383-35	0,91
383-28	0,63	383-36	0,77
383-29	1,00	383-37	0,79
383-30	0,61	383-38	0,77
383-31	0,79	383-39	0,71
383-32	0,62	383-40	0,77
383-33	0,96	383-41	0,23
		383-42	0,06

Die Gewächshauspflanzen wiesen einen durchschnittlichen Gehalt von 0,75 %, die Freilandpflanzen einen von 0,69 % Solasodin auf. Der Maximalwert der Freilandpflanzen erreichte 1,00 %, der der Gewächshauspflanzen 1,16 %.

Da bei Abschluß des Alkaloid-Screenings bereits von Solanum laciniatum (Coimbra 1976/22a) Calli angelegt waren und der Gehalt der Ausgangspflanze mit 1,08 % nur minimal unter dem der leistungsfähigsten Pflanze (383-18) lag, wurde auf ein erneutes Anlegen von Calli verzichtet.

5.2 Untersuchung des Steroidalkaloid- und -sapogeningehaltes von Zellkulturen

Die Calli von Solanum laciniatum AIT. und Solanum khasianum C.B. CLARKE wurden auf 27 verschiedenen Agar-Medien (vgl. B 3) kultiviert und auf Diosgenin bzw. Solasodin untersucht.

Während für Solanum laciniatum in den beiden ersten Passagen noch geringe Spuren von Solasodin nachgewiesen werden konnten, enthielten die Gewebeproben von Solanum khasianum dieses Alkaloid bereits ab der ersten Passage auch nicht mehr in Spuren. Die Diosgeningehalte lagen für S. laciniatum zwischen 0,01 % und 0,035 %, für S. khasianum zwischen 0,01 % und 0,03 %.

Da der Hauptinhaltsstoff Solasodin von den Calli nicht mehr gebildet wurde, erschien eine Optimierung der Kulturbedingungen nicht lohnend, selbst wenn dadurch der Diosgeningehalt der Ausgangspflanzen (0,08 % bzw. 0,1 %) erreicht worden wäre.

Auf dem Agar-Medium G_{75-IAA} wurde bei Solanum khasianum die Regeneration von ganzen Pflanzen beobachtet. Die Regenerate (Länge der Sproßachse = 4 cm) enthielten 0,28 % Solasodin und 0,18 % Diosgenin.

In Abb. 13 sind Wachstum und pH-Verlauf einer Suspensionskultur von Solanum khasianum (Medium G_{75-NAA}) dargestellt. Innerhalb der Kulturdauer von 18 Tagen nahm das Trockengewicht um das Vierzehnfache zu. Gegen Ende der Kulturpassage stieg der pH-Wert leicht an.

Ein ebenso gutes Wachstum (wie in Abb. 13 dargestellt) zeigten beide Solanum-Arten auch auf den verschiedenen Agar-Medien.

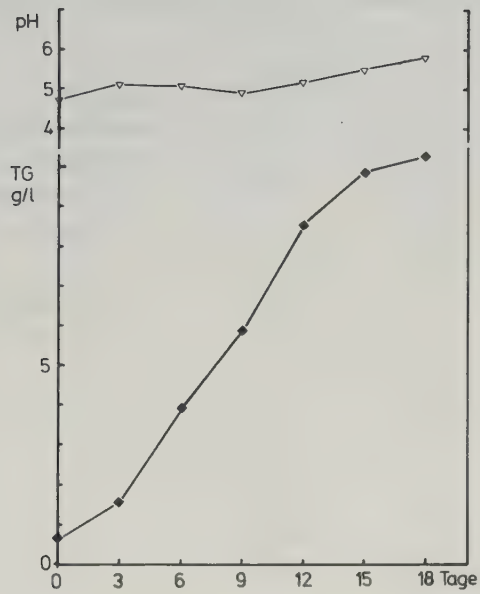


Abb. 13: Wachstumskurve einer Solanum khasianum-Suspensionskultur (Medium G_{75-NAA})

5.3 Untersuchung der Steroide in Zellkulturen von Solanum laciniatum AIT.

Da der Hauptinhaltsstoff Solasodin von Solanum laciniatum in Zellkulturen nicht gebildet wurde, sollte untersucht werden, welche anderen steroidalen Inhaltsstoffe in von Zellkulturen gewonnenen Gewebeextrakten nachgewiesen werden können.

Nach der gaschromatographischen Trennung der Inhaltsstoffe wurden von den einzelnen Komponenten Massenspektren aufgenommen, um die Identifizierung der Inhaltsstoffe zu ermöglichen.

Die apparativen Voraussetzungen hierfür wurden bereits unter B 6.7 beschrieben. In Abb. 14 ist das Gaschromatogramm eines Gewebeextraktes von S. laciniatum wiedergegeben. Die nummerierten

Peaks wurden als Campesterin (1), Diosgenin (2) und Sitosterin (3) identifiziert.

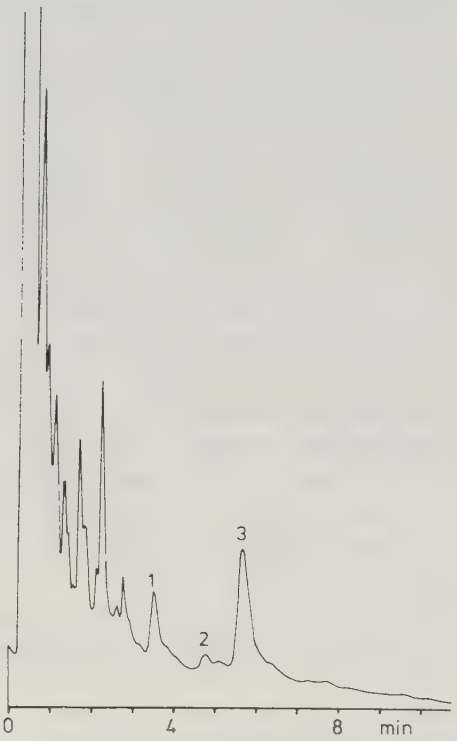


Abb. 14:
Gaschromatogramm eines Gewebeextraktes von S. laciniatum AIT. (GC-Bedingungen vgl. B 6.7)

1 = Campesterin
2 = Diosgenin
3 = ß-Sitosterin

Zur Identifizierung wurden, soweit vorhanden, Vergleichsspektren aus der Literatur herangezogen (BUDZIKIEWICZ, 1967 und BUDZIKIEWICZ/WILSON/DJERASSI, 1962).

Das Massenspektrum von Tigogenin (Abb. 17) wurde aus einem Extrakt von Solanum alatum MOENCH. (intakte Pflanze) aufgenommen. Um einen direkten Vergleich zum konfigurativ entsprechenden, aber ungesättigten Diosgenin zu ermöglichen, wird dieses Spektrum erst an dieser Stelle abgebildet.

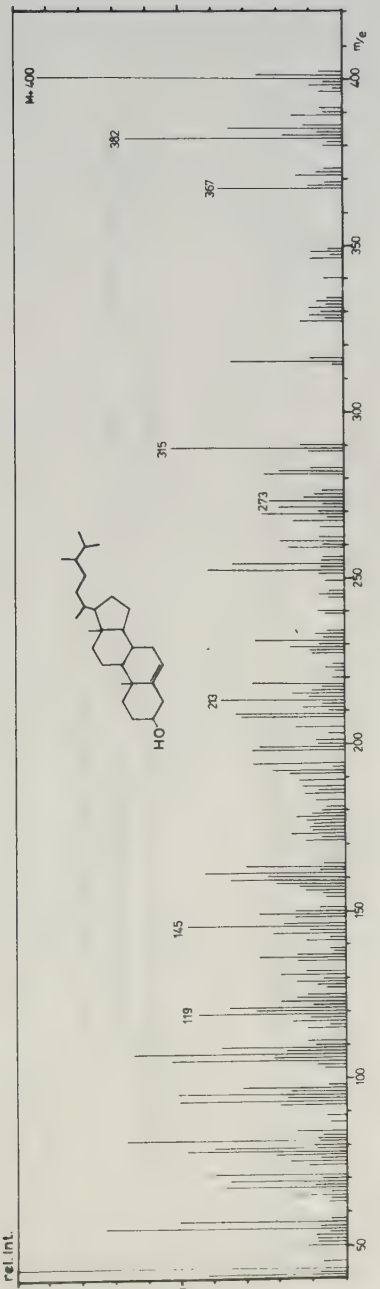


Abb. 15: Massenspektrum von Peak 1 (Vgl. Abb. 14) = Campesterin.
Signifikante Fragmente (m/e): 119, 145, 213, 255, 261, 269, 273, 315, 367, 382 und 400 (= M^+).

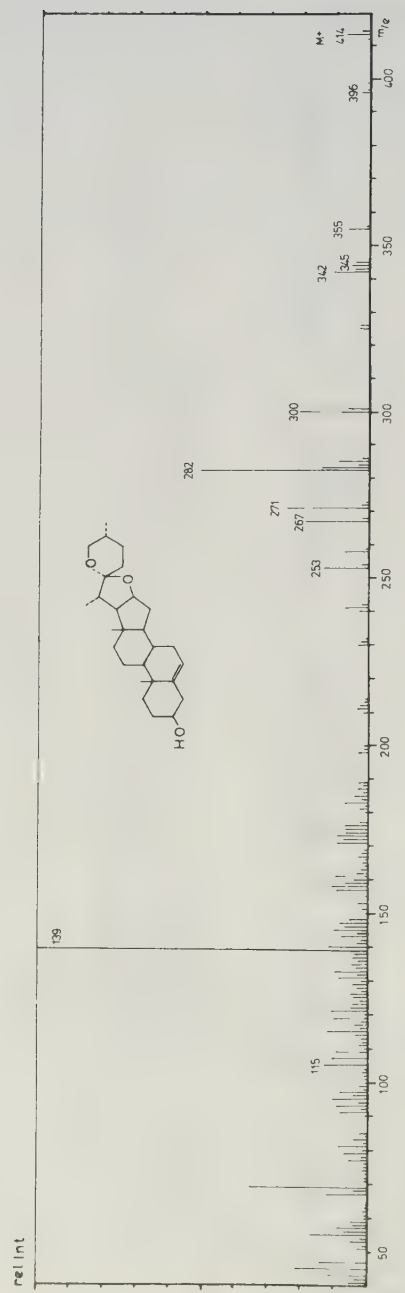


Abb. 16: Massenspektrum von Peak 2 (Vgl. Abb. 14) = Diosgenin.
Signifikante Fragmente (m/e): 115, 139, 253, 267, 271, 282, 285, 300, 342, 345, 355, 396 und 414 (= M^+).

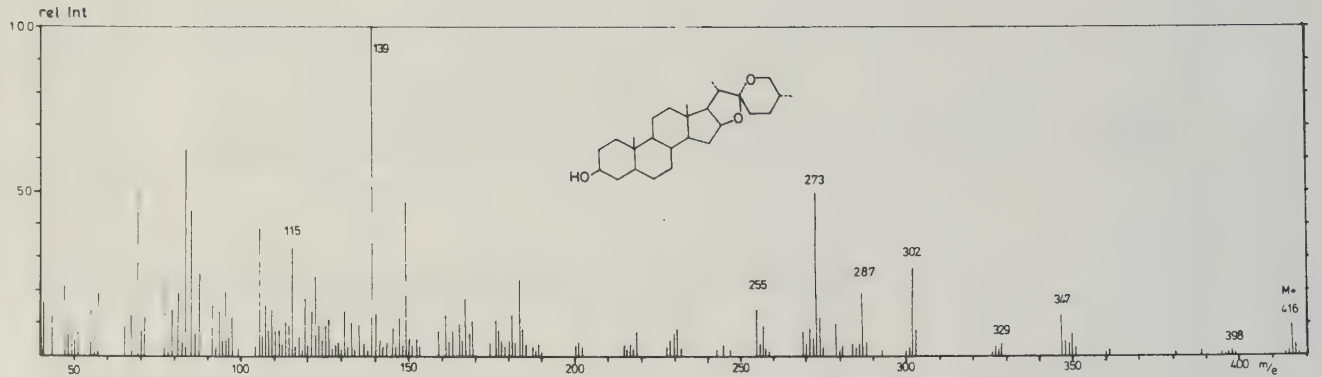


Abb. 17: Massenspektrum von Tigogenin (Blattextrakt von Solanum alatum MOENCH.). Signifikante Fragmente (m/e): 115, 139,255, 273, 287, 302, 329, 347, 398 und 416 (= M^+).

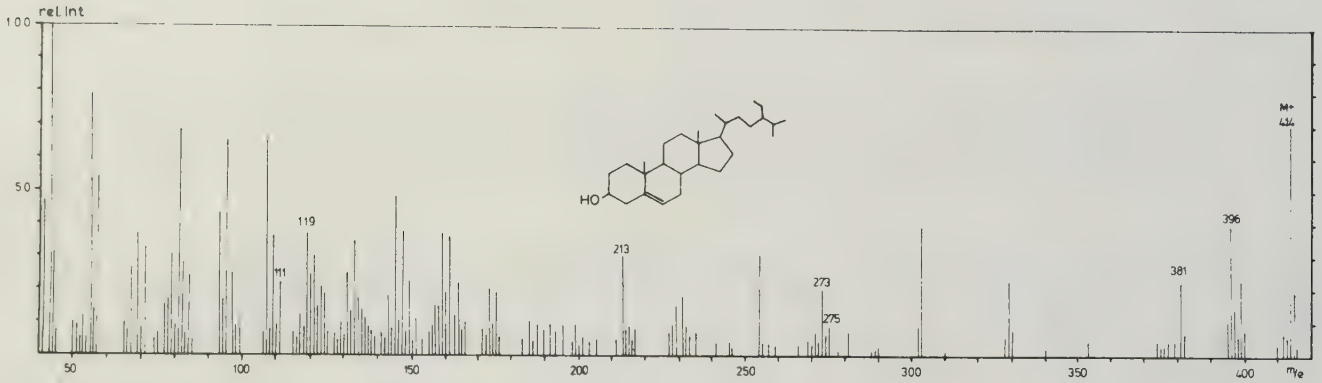


Abb. 18: Massenspektrum von Peak 3 (Vgl. Abb. 14) = ß-Sitosterin. Signifikante Fragmente (m/e): 111, 119, 213, 273, 275, 381, 396 und 414 (= M^+).

5.4 Diskussion der Ergebnisse

Untersuchungen über Zellkulturen von Solanum laciniatum AIT. liegen von VÁGÚJFALVI/MARÓTI/TÉTÉNYI (1971), SUBNIEWSKA/DOHNAL (1972a,b) Und ZENK (1978) vor. HEBLE/NARAYANASWAMI/CHADHA (1968a), KHANNA et al. (1976) und KADKADE/MADRID (1977) berichten über Zellkulturen aus weiteren Arten der Gattung Solanum L.

Während in S. laciniatum-Callus-Kulturen nur in den ersten beiden Kulturpassagen Spuren von Solasodin gefunden werden konnten, ließ sich in S. khasianum-Kulturen zu keiner Zeit Solasodin nachweisen. Dieses Alkaloid fehlte auch in den Zellkulturen von VÁGÚJFALVI/MARÓTI/TÉTÉNYI (1971) und SUPNIEWSKA/DOHNAL (1972a).

Dagegen geben HEBLE/NARAYANASWAMI/CHADHA (1968a) Vorkommen des Glykoalkaloids Solasonin in Zellkulturen von Solanum xanthocarpum und KADKADE/MADRID (1977) die Isolierung von Solamargin aus Solanum aculeatissimum an. Solasonin wurde nur in Spuren gefunden, über die Menge des isolierten Solamargins liegen keine Angaben vor. Das Alter der Solanum aculeatissimum-Kulturen betrug erst acht Wochen. Nach dieser Kulturdauer können noch keine endgültigen Aussagen darüber gemacht werden, ob die Zellkulturen zur Glykoalkaloidbiosynthese in der Lage sind. So beobachteten KARTNIG/RUSSHEIM/MAUNZ (1976) an Digitalis-Calli die Fähigkeit zur Cardenolidbiosynthese nur unmittelbar nach der Etablierung der Kultur. Nach kurzer Kultivierungsdauer waren keine Herzglykoside mehr nachweisbar.

KHANNA et al. berichten von Solasodinvorkommen in Solanum xanthocarpum SCHRAD. & WENDL., S. aviculare FORST., "S. elaegnifolium CAV." (sic!), S. khasianum C.B. CLARKE und S. nigrum L. Die Solasodingehalte liegen zwischen 0,02 ‰ und 0,9 ‰ bezogen auf das Trockengewicht. Das Alter der Kulturen lag zwischen 8 und 12 Monaten.

Durch Analyse von Zellklonen mittels der RIA-Methode konnte ZENK (1978) u.a. am Beispiel von S. laciniatum zeigen, daß einzelne Zellkolonien der untersuchten Callus-Kulturen nicht mehr in der

Lage sind, die Inhaltsstoffe der Ausgangspflanze zu synthetisieren, andere jedoch in ihrem Gehalt an dem gewünschten Inhaltsstoff die Ausgangspflanze sogar übertreffen. So wiesen einzelne Kolonien einen Glykoalkaloidgehalt von 3,0 % auf (= ca. 1,5 % Solasodin). Durch Selektion solcher gut produzierender, stabiler Klone können Gehalte in Zellkulturen erreicht werden, die mit denen der intakten Pflanze vergleichbar sind.

Der Verlust des Solasodins in den hier untersuchten Zellkulturen von S. laciniatum könnte darauf beruhen, daß durch eine unbewußte Selektion der Kulturen beim Umimpfen stets besser wachsende, nicht produzierende Anteile der Zellkultur ausgelesen wurden.

In den meisten der untersuchten Solanum-Zellkulturen konnte jedoch das begleitende Diosgenin weiterhin gefunden werden. VÁGÚJFALVI/MARÓTI/TÉTÉNYI (1971) geben für S. laciniatum-Kulturen einen Gehalt von 0,01 % Diosgenin an. Auch in der vorliegenden Untersuchung wurden für S. laciniatum 0,035 % und für S. khasianum 0,03 % Diosgeningehalt gemessen, wobei etwa die Hälfte des Diosgeningehaltes der Ausgangspflanze erreicht wurde.

SUBNIEWSKA/DOHNAL (1972a) konnten in Zellkulturen von S. laciniatum die Zuckerkomponenten Rhamnose und Galactose der Glykoalkaloide Solasonin und Solamargin nicht mehr nachweisen. Außerdem konnten sie β-Sitosterin als einziges Steroid dünnschichtchromatographisch in den Gewebekulturen nachweisen.

HEBLE/NARAYANASWAMI/CHADHA (1968b) wiesen für Solanum xanthocarpum-Zellkulturen ebenfalls β-Sitosterin nach.

Bei den eigenen Untersuchungen konnten die Sterine Campesterin und β-Sitosterin neben Diosgenin in Zellkulturen von S. laciniatum massenspektrometrisch nachgewiesen werden.

Die Regeneration von ganzen Solanum-Pflanzen wurden bereits von FASSULIOTIS (1975) und KOKATE/RADWIN (1978) beschrieben. Letztere untersuchten die S. khasianum-Regenerate zu einem frühen Zeit-

punkt der Organogenese und erhielten einen Glykoalkaloidgehalt von 5,2 %. Übereinstimmend mit diesem Befund enthielten die im Rahmen dieser Arbeit analysierten S. khasianum-Regenerate ebenfalls Solasodin (0,28 %). Das Vorkommen von Steroidalkaloiden bei der Organogenese von Pflanzen zeigt, wie eng Biosyntheseleistungen an morphologische Differenzierung gebunden sind.

D Zusammenfassung

Um Steroidalkaloide und -sapogenine von Solanum-Pflanzen im Rahmen eines Steroid-Screenings erfassen zu können, wurde eine gaschromatographische Methode zur Simultanbestimmung beider Stoffklassen entwickelt.

Innerhalb der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] wurden an 32 Arten (bzw. 55 Herkünften) erste systematische Untersuchungen auf Steroidsapogenine durchgeführt. Die Blätter von Arten dieser Sektion führen einheitlich Tigogenin oder Diosgenin oder beide Sapogenine gemeinsam. Für 29 der untersuchten Arten werden erstmals Sapogeninvorkommen angegeben. Das Steroidalkaloid Solasodin fehlte in allen untersuchten Blattproben.

In unreifen Früchten von Arten aus der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] wurde in den meisten Fällen (86 %) Solasodin akkumuliert. Das Alkaloid wurde stets von den konfigurativ entsprechenden Sapogeninen Diosgenin und (oder) Tigogenin aus der 25 R - - Reihe begleitet. Auch alkaloidfreie Sippen enthalten in den Früchten Steroidsapogenine. Bei gemeinsamem Vorkommen von Sapogeninen und Alkaloid dominiert in quantitativer Beziehung meist das Alkaloid. Für acht Vertreter der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] wird erstmals das Vorkommen von Solasodin angegeben.

Der Gehalt der Steroidalkaloide bzw. -sapogenine wurde im Verlauf

der Ontogenie in allen Organen von Solanum atriplicifolium GILL., Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] untersucht. Der Anteil von Diosgenin, Tigogenin und Solasodin am Gesamtgehalt wurde bestimmt. Für die untersuchten Komponenten zeigte sich sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht eine Abhängigkeit vom untersuchten Organ und dessen Entwicklungszustand.

Durch Untersuchungen an Früchten von Solanum atriplicifolium GILL. konnte gezeigt werden, daß der mit fortschreitender Entwicklung verbundene Alkaloidabbau - im Gegensatz zu älteren Untersuchungen - nicht mit einer Zunahme der Steroidsapogenine verbunden war, sondern mit einem Abbau der Steroidsapogenine Hand in Hand ging.

Die weite Verbreitung von Steroidsapogeninen in Arten der Gattung Solanum L. konnte auch anhand von Daten eines Steroid-Screenings bei Vertretern außerhalb der Sektion Solanum [Morella (DUN.) BITT.] aufgezeigt werden. Da zur Charakterisierung der Gattung Solanum L. die Steroidsapogenine bisher weitgehend unbeachtet blieben, wird vorgeschlagen, diese Stoffklasse (neben den Steroidalkaloiden) chemotaxonomisch stärker zu berücksichtigen.

Aufgrund des durchgeführten Steroid-Screenings innerhalb der Gattung Solanum L. konnte mit Solanum aurantiacobaccatum DE WILD. eine neue, potentielle Steroidrohstoffquelle (mit hohem Diosgeningehalt in den Blättern) gefunden werden. Quantitative Studien an dieser Art weisen darauf hin, daß junge Blätter als Biosyntheseort für die Steroidsapogenine anzusehen sind.

Zellkulturen von Solanum laciniatum AIT. und Solanum khasianum C.B. CLARKE enthielten spätestens nach der zweiten Kulturpassage kein Solasodin mehr. Dagegen erreichten die Diosgeningehalte der Zellkulturen annähernd die Werte der Ausgangspflanzen. In Regeneraten von Solanum khasianum konnte Solasodin nachgewiesen werden.

In Solanum laciniatum-Gewebeextrakten konnten durch GC-MS-Untersuchungen β-Sitosterin, Campesterin und Diosgenin als steroidale Inhaltsstoffe nachgewiesen werden.

E Literaturverzeichnis

ALFERMANN, A.W., 1973: Untersuchungen zur Anthocyansynthese in Kalluskulturen von Daucus carota L. Diss. Tübingen

AURICH, O., DANERT, S., PUFAHL, K., ROMEIKE, A., RÖNSCH, H., SCHREIBER, K., SEMDNER, G., 1966: Phytochemische Untersuchungen an Pflanzen II. Die Kulturpfl. 14, 448.

AURICH, O., DANERT, S., ROMEIKE, A., RÖNSCH, H., SCHREIBER, K., SEMDNER, G., 1967: Phytochemische Untersuchungen an Pflanzen III. Die Kulturpfl. 15, 205.

BIRNER, J., 1969: Determination of Total Steroid Bases in Solanum Species. J. Pharm. Sci. 58, 258.

BOGNÁR, R., MAKLEIT, S., 1965: Steroidalkaloidglykoside. Pharmazie 20, 40.

BOLL, P.M., 1962: Alkaloidal glycosides from Solanum dulcamara L. II. Three new glycosides and a reassessment of soladulcamarine. Acta Chem. Scand. 16, 1819.

- , 1966: Solanum steroid alkaloids; chemistry and botanical distribution; a review. Akademisk Forlag, Köbenhavn.

BUDZIKIEWICZ, H., 1967: Mass Spectrometry of Organic Compounds. Holden Day Inc., London.

BUDZIKIEWICZ, H., WILSON, J.M., DJERASSI, C., 1962: Massenspektroskopie und ihre Anwendung auf strukturelle und stereochemische Probleme, 15. Mitt.: Steroidsapogenine. Monatsh. Chem. 93, 1033.

BUHR, H., 1961: Krankheiten und Schädlinge an Solanum aviculare FORST. und Solanum auriculatum AIT. in Deutschland. Tagungsber. Dtsch. Akad. Landwirtschaftswiss. Berlin 27, 249.

CARLE, R., ALFERMANN, A.W., REINHARD, E., 1977: Diosgenin from Solanum aurantiacobaccatum DE WILD. Planta Med. 32, 195

CARLE, R., REINHARD, E., 1979: Planta Med., in Vorber.

CERNY, V., LABLER, L., 1959: On Steroids XLV: The Isolation of Tigogenin from some Species of Solanum. Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 24, 3468.

CLARKE, E.C.G., 1958: Identification of Solanine. Nature 181, 1152

COOKE, B.K., 1970: Determination of Diosgenin in Dioscorea deltoidea and Dioscorea sylvatica by Using Gas-Liquid Chromatography. Analyst 95, 95.

CRIPPS, A.L., BLUNDEN, G., 1978: A Quantitative Gas-Liquid Chromatographic Method for the Estimation of Hecogenin and Tigogenin in the Leaves, Juice and Sapogenin Concentrates of Agave sisilana. Steroids 31, 661.

DÖPKE, W., MOLA, I.L., HESS, U., 1976: Über den Alkaloid- und Steroidsapogeningehalt von Solanum verbascifolium L. Pharmazie 31, 656.

FASSULIOTIS, G., 1975: Regeneration of Whole Plants from Isolated

Stem Parenchyma Cells of Solanum sisymbriifolium. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100, 636.

FAZLI, F.R.Y., HARDMAN, R., 1968: The Spice, Fenugreek, (Trigonella foenumgraecum L.): Its Commercial Varieties of Seed as a source of Diosgenin. Trop. Sci. 10, 66.

FRIEDRICHSON, J.G., 1979: Diss. Tübingen,in Vorber.

GRACZA, L., SZÂSZ, K., 1962: Bestimmung des Steroidalkaloid-Gehaltes einiger Solanaceen-Drogen mit Hilfe einer neuen, kolorimetrischen Methode. Arch. Pharm. 295, 859.

GUERREIRO, E., GIORDANO, O.S., KAVKA, J., D`ARCANGELO, A.T., 1972: Isolation of Steroid Components of Solanum eleagnifolium. An. Quim. 67, 789.

GUSEVA, A.R., PASESHNICHENKO, W.A., 1958: (russ.), Biokhimia 23, 412.

HARDMAN, R., WILLIAMS, T.G., 1976: A Titrimetric Determination of Solasodine for Aqueous Incubates of Solanum Fruits. Planta Med. 29, 66.

HARRISON, D.M., 1976: Solanum and Veratrum Steroidal Alkaloids. In: GRUNDON, M.F. (Ed.), The Alkaloids VI.

HEBLE, M.R., NARAYANASWAMI, S., CHADHA, M.S., 1968a: Solasonine in Tissue Cultures of Solanum xanthocarpum. Naturwiss. 55, 350.

- , 1968b: Diosgenin and B-Sitosterol: Isolation from Solanum xanthocarpum Tissue Cultures. Science 161, 1145.

HEGNAUER, R., 1964: Chemotaxonomie der Pflanzen. Bd. III. Birkhäuser-Verlag, Basel.

HERBERT, R.B., 1974: Solanum and Veratrum Alkaloids. In: SAXTON, J.

et al. (Ed.), The Alkaloids, Vol. IV.

HERBERT, R.B., 1975: Solanum and Veratrum Steroidal Alkaloids. In: SAXTON, J.E. (Ed.), The Alkaloids, Vol. V.

HUNTER, I.R., WALDEN, M.K., WAGNER, J.R., HEFTMANN, E., 1976: Thin-layer chromatography of steroidal alkaloids. J. Chrom. 118, 259.

KAISER, R.E., 1968: Chromatographie in der Gasphase, Bd. I-IV. Bibliographisches Institut, Mannheim.

KAKADE, P.G., MADRID, T.R., 1977: Glycoalkaloids in Tissue Cultures of Solanum acculeatissimum Naturwiss. 64, 147.

KARTNIG, T., RUSSHEIM, U., MAUNZ, B., 1976: Beobachtungen über das Vorkommen und die Bildung von Cardenoliden in Gewebekulturen aus Digitalis purpurea und Digitalis lanata. Planta Med. 29, 275.

KAWASAKI, T., MIYAHARA, K., 1963: Thin Layer Chromatography of Steroid Saponins and Their Derivates. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 11, 1546.

KHANNA, P., UDDIN, A., SHARMA, G.L., MANOT, S.K., RATHORE, A.K., 1976: Isolation & Characterisation of Sapogenin & Solasodine from in vitro Tissue Cultures of Some Solanaceous Plants. Indian J. Exptl. Biol. 14, 694.

KNIGHT, J.C., 1977: Analysis of Fenugreek sapogenins by gas-liquid chromatography. J. Chrom. 133, 222.

KOBLITZ, H., 1972: Zell- und Gewebezüchtung bei Pflanzen. G. Fischer-Verlag, Stuttgart.

KOKATE, C.K., RADWAN, S.S., 1978: Steroidal Glycoalkaloids in Tissue Cultures of Solanum khasianum during Organogenesis. Planta Med. 33, 301.

KUHN, R., LÖW, I., 1955: Die Alkaloidglykoside der Blätter von Solanum aviculare. Chem. Ber. 88, 289.

LANCASTER, J.E., MANN, J.D., 1975: Changes in Solasodine Content during the Development of Solanum laciniatum. N.Z.J. Agric. Res. 18, 139.

MAITI, P.C., MOOKHERJEA, S., MATHEW, R., 1965: Rich Sources of Solasodine. J. Pharm. Sci. 54, 1828.

MARKER, R.E., 1943: Sterols CLVII. Sapogenins LXIX. Isolation and Structures of Thirteen New Steroidal Sapogenins. New Sources for Known Sapogenins. J. Amer. Chem. Soc. 65, 1199.

MOOKHERJEA, S., MATHEW, R., 1969: Diosgenin from Solanum species. J. Indian Chem. Soc. 46, 749.

MOTHES, K., 1960: Alkaloids in plants. In: MANSKE, R.H.F., (Ed.), The Alkaloids, Vol. VI.

MURAJEVA, V.I., KONDRATENKO, P.T., BRINK, N.P., 1964: Dynamics of Solasodine Accumulation in Solanum laciniatum (russ.). Med. Prom. SSSR 18, 20.

MURASHIGE, T., SKOOG, F., 1962: A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. Physiol. Plant. 15, 473.

NEUBAUER, S., 1961: Über einige Fragen der Phytopathologie von Solanum aviculare FORST. Tagungsber. Dtsch. Akad. Landwirtschaftswiss., Berlin, 27, 245.

REINHARD, E., 1967: Probleme der Produktion von Arzneistoffen durch pflanzliche "Gewebekulturen". Dtsch. Apotheker-Ztg. 107, 1201.

RÖNSCH, H., SCHREIBER, K., 1967: Analytische und präparative dünn-

schichtchromatographische Trennung von 5α - gesättigten bzw. Δ^5- ungesättigten Steroidalkaloiden und -sapogeninen an Silbernitrat-haltigen Adsorptionsschichten. J. Chrom. 30, 149.

ROZUMEK, K.E., 1969: Dünnschicht-chromatographische Trennung von Tomatidenol, Solasodin und Soladulcidin bzw. Yamogenin, Diosgenin und Tigogenin. J. Chrom. 40, 97.

SANDER, H., 1956a: Studien über Bildung und Abbau von Tomatin in der Tomatenpflanze. Planta 47, 374.

- , 1956b: Über die Gewinnung tomatinreicher Tomatenpflanzen als Ausgangsmaterial für Steroidhormon-Synthesen. Arch. Pharm. 61, 308.

- , 1961: Isolierung von Diosgenin und Gitogenin aus Solanum sodomaeum L. Naturwiss. 48, 303.

- , 1963a: Zur Chemotaxonomie der Gattung Solanum (sensu ampl.). Englers Bot. Jahrb. 82, 404.

- , 1963b: Über Solanum dulcamara L. 7. Mitt.: Abbau von Spirosolanolglykosiden in reifenden Früchten. Planta Med. 11, 23.

SANDER, H., ANGERMANN, B., 1961: Über den biologischen Abbau des Tomatins. Tagungsber. Dtsch. Akad. Landwirtschaftswiss. Berlin, 27, 163.

SANDER, H., WILLUHN, G., 1961: Über Solanum dulcamara L. 5. Mitt.: Isolierung von Tigogenin neben Soladulcidin aus reproduktiven Organen. Flora 151, 150.

SATO, Y., LATHAM, H.G., 1953: The Isolation of Diosgenin from Solanum xanthocarpum. J. Amer. Chem. Soc. 75, 6067.

SAUVAIRE, Y., BACCOU, J.C., 1978: L `obtention de la Diosgénine,

(25 R)-Spirost-5-ène-3ß-ol; Problemes de l'hydrolyse acide des sapogenines. Lloydia 41, 247.

SCHREIBER, K., 1957: Isolierung von Δ^5 - Tomatidenol-(3ß) und Yamogenin aus Solanum tuberosum. Angew. Chem. 69, 483.

- , 1958: Über das Vorkommen von Solasodinglykosiden in Solanum nigrum L. und ihre industrielle Verwertung. Planta Med. 6, 435.

- , 1963: Isolierung von Solasodin-glykosiden aus Pflanzen der Gattung Solanum L. Solanum-Alkaloide, XXVIII. Mitt., Kulturpfl. 11, 451.

- , 1968: Steroid Alkaloids: The Solanum Group. In: MANSKE, R.H.F. (Ed.), The Alkaloids, Vol. X.

SCHREIBER, K., AURICH, O., OSSKE, G., 1963: Solanum-Alkaloide: Dünnschichtchromatographie von Solanum-Steroidalkaloiden und Steroidsapogeninen. J. Chrom. 12, 63.

SEGAL, R., BREUER, A., MILO-GOLDZWEIG, I., 1978: Solasodine Stability under Conditions of Saponin Hydrolysis. J. Pharm. Sci. 67, 1169.

SEGAL, R., MILO-GOLDZWEIG, I., ZAITSCHEK, D.V., 1977: Diosgenin and Yamogenin from Solanum incanum. Lloydia 40, 604.

SUPNIEWSKA, J.H., DOHNAL, B., 1972a: Tissue Culture of Solanum laciniatum AIT. Part I. Diss. Pharm. Pharmacol. 24, 187.

- , 1972b: Tissue Culture of Solanum laciniatum AIT. Part II. Diss. Pharm. Pharmacol. 24, 193.

TELEK, L., 1977: Determination of Solasodine in Fruits of Solanum Species. J. Pharm. Sci. 66, 699.

TÉTÉNYI, P., 1976: Chemotaxonomy of the Range of Saponins in the Vegetable Kingdom (ung.). Herba Hung. 15, 27.

TSCHESCHE, R., PRIESTERT, G., 1975: The Biosynthesis of Tigogenin in Digitalis lanata and of Solasodine in Solanum laciniatum. Phytochem. 14, 435.

TUZSON, P., MAGYAR, G., KISS, Z., 1958: Solanum-Alkaloide. III. Untersuchungen von Solanum-Arten. Acta Pharm. Hung. 4, 151.

VÁGÚJFALVI, D., HELD, G., TÉTÉNYI, P., 1966: Basische und neutrale Steroidsapogenine in Solanum-Arten. Arch. Pharm. 299, 812.

VÁGÚJFALVI, D., MARÓTI, M., TÉTÉNYI, P., 1971: Presence of Diosgenin and Absence of Solasodine in Tissue Cultures of Solanum laciniatum. Phytochem. 10, 1389.

VANDEN HEUVEL, W.J.A., HORNING, E.C., SATO, Y., IKEKAWA, N., 1961: Gas Chromatographic Separation of Steroidal Amines. J. Org. Chem. 26, 628.

VARADI, J., CSAPO, E., HALMAI, J., 1966: The Changes of Solasodine Content in the "Industrial Shoots" of Solanum laciniatum AIT. (ung.). Acta Agron. Acad. Hung. 15, 403.

VARSHNEY, I.P., SHARMA, S.C., 1965: Saponins and Sapogenins - XXIX. The Sapogenin of Solanum nigrum L. Berries. Phytochem. 4, 967.

VARSHNEY, I.P., DUBE, N.K., 1970: Chemical Investigation of Solanum nigrum Berries. J. Indian Chem. Soc. 47, 717.

WALDI, D., 1962: Sprühreagentien für die Dünnschichtchromatographie. In: STAHL, E., Dünnschichtchromatographie. Ein Laboratoriumshandbuch, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg.

WILLUHN, G., 1966: Untersuchungen zur chemischen Differenzierung bei Solanum dulcamara I. Genetische Fixierung der unterschied-

lichen Steroidalkaloidführung. Planta Med. 14, 408.

WILLUHN, G., 1967: Untersuchungen zur chemischen Differenzierung bei Solanum dulcamara II. Der Steroidgehalt in Früchten verschiedener Entwicklungsstadien der Tomatidenol- und Soladulcidin-Sippe. Planta Med. 15, 58.

- , 1969: Untersuchungen zur chemischen Differenzierung bei Solanum dulcamara IV. Zur Frage der Einwanderung von Steroidalkaloiden von den Blättern in die Früchte. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 82, 657.

WILSON, P.M.W., 1959: Evidence of downward transport of "solanaceous" alkaloids. New Phytologist 58, 326.

ZARYBNICKA, A., 1977: Morphologische Untersuchungen an Vertretern der Gattung Solanum Sektion Solanum. Dipl.-Arb., Tübingen.

ZENK, M.H., 1978: The impact of plant cell culture on industry and agriculture. In: THORPE, T.A. (Ed.), Frontiers of plant tissue culture 1978.

Lebenslauf

Am 18. Dezember 1950 wurde ich als zweites Kind des Landwirts Reinhold Carle und seiner Ehefrau Paula, geb. Bürner, in Künzelsau geboren.
Nach dem Besuch der Volksschule in Niedernhall von 1957 bis 1961 trat ich in das Städt. Gymnasium in Künzelsau ein, wo ich am 6. Juni 1969 die Reifeprüfung ablegte.
Von Oktober 1969 bis September 1971 leistete ich meinen Wehrdienst beim Bundesgrenzschutz ab.
Im Wintersemester 1971/72 nahm ich an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen das Biologie- und Chemiestudium für das Höhere Lehramt auf, das ich im November 1976 mit dem Staatsexamen abschloß. Meine Zulassungsarbeit für das Höhere Lehramt fertigte ich am Lehrbereich Spezielle Botanik unter Anleitung von Prof. Dr. W. Frey über die Vegetation des Maharlu-Salzsees bei Shiraz/Südiran. Seit Oktober 1973 arbeitete ich als stud. Hilfskraft beim Lehrbereich Spezielle Botanik, später beim Sonderforschungsbereich 19 TAVO (Tübinger Atlas des Vorderen Orients). 1975, 1976 und 1979 nahm ich an Forschungsreisen nach Iran, Griechenland und in die Türkei teil.
Im November 1976 begann ich am Lehrstuhl für Pharm. Biologie unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. E. Reinhard und Herrn Prof. Dr. F. Oberwinkler, Lehrbereich Spezielle Botanik, mit der Anfertigung der vorliegenden Dissertation, die ich im Frühjahr 1979 abschloß.
Im Wintersemester 1977/78 nahm ich das Studium der Pharmazie auf. Seit November 1976 bin ich als geprüfte wiss. Hilfskraft am Lehrstuhl für Pharm. Biologie tätig.
Am 6. August 1976 heiratete ich Wally Reichelt aus Künzelsau.

Meine akademische Ausbildung verdanke ich:

H.P.T. Ammon, H. Auterhoff, R.-E. Bader, C.-F. Bardele, E. Bayer, W. Frey, E. Graf, K.G. Grell, W. Harder, K.A. Kovar, H. Krüger, E. Kulzer, H. Metzner, F.P. Möhres, E. Müller, F. Oberwinkler, D. Oelkrug, E. Reinhard, W. Rüdorff, J.E. Schultz, B. Schwemmle, F.F. Seelig, H. Suhr, P. Wenk, S. Winkler.

Herstellung:
Sprint-Druck GmbH
7000 Stuttgart-30
Wienerstr. 117, Tel. 81 26 69

Herstellung:
Sprint-Druck GmbH
7000 Stuttgart-30
Wienerstr. 117, Tel. 81 26 69